

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

**Untersuchung der Konzentration ausgewählter
Mikronährstoffe im Serum von Früh- und Reifgeborenen und
deren Müttern - eine Beobachtungsstudie**

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

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

vorgelegt von

Rottach-Barnekow, geb. Barnekow, Fee

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter Professor Dr. med. A. Franz

2. Berichterstatter Professor Dr. med. F. Neunhoeffer

Tag der Disputation: 18.03.2025

Für meine Eltern
Bärbel und Jürg

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	11
Abkürzungsverzeichnis	13
Chemische und physikalische Größen	15
1 Einleitung.....	16
1.1 Frühgeburtlichkeit.....	16
1.1.1 Frühgeburt und Geburtsgewicht.....	16
1.1.2 Epidemiologie.....	16
1.1.3 Ätiologie und Risikofaktoren.....	17
1.1.4 Herausforderungen der Frühgeburtlichkeit.....	17
1.2 Ernährung von Frühgeborenen	21
1.2.1 Muttermilch.....	22
1.2.2 Supplementierung der Muttermilch	23
1.2.3 Nahrungsregime in Tübingen	24
1.3 Nukleotide.....	26
1.3.1 Nukleinsäurebasen.....	27
1.3.2 Bedeutung für den Stoffwechsel	29
1.3.3 Nukleotide als konditionell essenzielle Nährstoffe	30
1.3.4 Supplementierung von Nukleotiden	30
1.4 Fragestellung der Studie	33
2 Material und Methoden.....	34
2.1 Material.....	34
2.1.1 Geräte	34
2.1.2 Substanzen und Lösungsmittel	34
2.1.3 Verbrauchsmaterial	35
2.1.4 Software	36
2.2 Methoden.....	37
2.2.1 Studiendesign und -ablauf.....	37

2.2.2	Zustimmende Bewertung der Ethik-Kommission	37
2.2.3	Probanden	37
2.2.4	Rekrutierung.....	39
2.2.5	Datenerhebung.....	39
2.2.6	Probengewinnung und Probenlagerung.....	40
2.2.7	Aufarbeitung der Blutproben	40
2.2.8	Massenspektrometrische Analyse.....	42
2.2.9	Statistische Auswertung	44
3	Ergebnisse	45
3.1	Deskriptive Auswertung	45
3.1.1	Studienpopulation.....	45
3.2	Konzentration ausgewählter Mikronährstoffe	52
3.2.1	Nabelschnurplasmaproben	52
3.2.2	Plasmaproben Mütter	57
3.2.3	Plasmaproben der Kinder bei der ersten Blutentnahme	61
3.2.4	Plasmaproben der Kinder bei der zweiten Blutentnahme	66
3.2.5	Konzentrationsunterschiede zwischen den Studiengruppen.....	70
3.3	Konzentrationen in Nabelschnur-Plasmaproben und mütterlichen Plasmaproben in Abhängigkeit vom Gestationsalter	73
3.3.1	Pyrimidinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters.....	73
3.3.2	Purinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalter.....	74
3.3.3	Zusammenfassung Korrelation der Konzentration ausgewählter Purine und Pyrimidine mit dem Gestationsalter bei Geburt	76
3.4	Konzentrationsunterschiede zwischen Mutter, Nabelschnur und Kind in Abhängigkeit der Studiengruppen	77
3.4.1	Ausgewählte Pyrimidine – Konzentrationsunterschiede	77
3.4.2	Ausgewählte Purine – Konzentrationsunterschiede.....	79
3.4.3	Korrelation der Konzentration ausgewählter Purine und Pyrimidine zwischen den mütterlichen Plasmaproben und den Konzentrationen in den Nabelschnur- bzw. kindlichen Plasmaproben	85
3.5	Korrelation der Konzentration ausgewählter Purine und Pyrimidine im Nabelschnurplasma mit dem pH-Wert.....	86
4	Diskussion	87

4.1	Aktualität der Fragestellung	87
4.2	Diskussion der Ergebnisse	88
4.2.1	Massenspektrometrische Bestimmung der Konzentrationen	88
4.3	Diskussion der Fragestellung	94
4.3.1	Ist die Plasmakonzentration ausgewählter Purine/Pyrimidine in den mütterlichen Proben unterschiedlich zu der Konzentration im Nabelschnur-Plasma und sind diese vom Gestationsalter abhängig?	94
4.3.2	Gibt es Unterschiede zwischen der Purin-/Pyrimidin-Konzentrationen der NS-Plasmaproben und den kindlichen Blutproben 72 Stunden postnatal in Abhängigkeit vom Gestationsalter?	95
4.3.3	Kindliche Blutproben – ist die Mikronährstoff-Konzentration nach 14 Tagen stationärem Aufenthalt niedriger als zum Zeitpunkt der Geburt?	97
4.4	Methodendiskussion	98
4.4.1	Messmethodik	98
4.4.2	Auswahl des Messmediums Blutplasma	99
4.4.3	Zeitpunkt der Blutentnahmen	100
4.5	Schlussfolgerung aus der Arbeit	101
5	Zusammenfassung	104
6	Literaturverzeichnis	108
7	Anhang	117
7.1	Eichkurven	117
7.2	Aufklärungsbogen	123
7.3	Einverständniserklärung	124
7.4	Mutter – Fragebogen	125
7.5	Basisbogen – Mikronährstoffstudie II	126
7.6	Laborbogen – Mikronährstoffstudie II	127
8	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	128
9	Danksagung	129

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel Nukleotid.	26
Abbildung 2: Strukturformel Pyrimidinbasen.....	27
Abbildung 3: Strukturformel Purinbasen.	28
Abbildung 4: Einteilung der Studienpopulation nach SSW.	38
Abbildung 5: Schematischer Aufbau eines Massenspektrometers.....	43
Abbildung 6: Aufbau der Studienpopulation.....	45
Abbildung 7 A&B: Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in $\mu\text{mol/L}$ in Nabelschnur-Plasmaproben.	54
Abbildung 8 A&B: Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in $\mu\text{mol/L}$ in den mütterlichen Plasmaproben.	58
Abbildung 9 A&B: Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in $\mu\text{mol/L}$ in den Plasmaproben der ersten Blutentnahme der Kinder.....	63
Abbildung 10 A&B: Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in $\mu\text{mol/L}$ in den Plasmaproben der zweiten Blutentnahme der Kinder.....	67
Abbildung 11: Cytidin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter.....	73
Abbildung 12: Cytidin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter.....	73
Abbildung 13: Uridin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter.....	73
Abbildung 14: Uridin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter.....	73
Abbildung 15: Hypoxanthin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter.....	74
Abbildung 16: Hypoxanthin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter.....	74
Abbildung 17: Xanthin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter.....	74
Abbildung 18: Xanthin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter.....	74

Abbildung 19: Inosin Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter	75
Abbildung 20: Inosin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter	75
Abbildung 21: AMP-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter	75
Abbildung 22: AMP -Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter	75
Abbildung 23: Boxplots der Cytidin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaprobe n der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	77
Abbildung 24: Median der Cytidin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaprobe n der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	77
Abbildung 25: Boxplots der Uridin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaprobe n der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	78
Abbildung 26: Median der Uridin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaprobe n der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	78
Abbildung 27: Boxplots der Hypoxanthin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaprobe n der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	79
Abbildung 28: Median der Hypoxanthin-Konz. [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaprobe n der Mutter, NS und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	79
Abbildung 29: Boxplots der Xanthin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaprobe n der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	80
Abbildung 30: Median der Xanthin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaprobe n der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	80

Abbildung 31: Boxplots der Inosin-Konzentration[$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	81
Abbildung 32: Median der Inosin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	81
Abbildung 33: Boxplots der AMP-Konzentration[$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	82
Abbildung 34: Median der AMP-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.	82
Abbildung 35: Uridin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] Korrelation zwischen den Plasmaproben der Mütter und den NS-Proben.....	85
Abbildung 36: Eichkurve 112-Cytosin	117
Abbildung 37: Eichkurve 127-Thymin	117
Abbildung 38: Eichkurve 112.9-Uracil.....	117
Abbildung 39: Eichkurve 244-Cytidin	118
Abbildung 40: Eichkurve 243-Thymidin	118
Abbildung 41: Eichkurve 245-Uridin.....	118
Abbildung 42: Eichkurve 136-Adenin.....	119
Abbildung 43: Eichkurve 152-Guanin	119
Abbildung 44: Eichkurve 137-Hypoxanthin	119
Abbildung 45: Eichkurve 153-Xanthin.....	119
Abbildung 46: Eichkurve 268-Adenosin	120
Abbildung 47: Eichkurve 284-Guanosin.....	120
Abbildung 48: Eichkurve 269-Inosin	120
Abbildung 49: Eichkurve 348-AMP	121
Abbildung 50: Eichkurve 324-CMP	121
Abbildung 51: Eichkurve 364-GMP	121
Abbildung 52: Eichkurve 349-IMP	121
Abbildung 53: Eichkurve 323-TMP	122

Abbildung 54: Eichkurve 325-UMP 122

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Akute und chronische Komplikationen als Folge einer Frühgeburt..	20
Tabelle 2: Nukleotidgehalt in Nestlé ® BEBA®-Produkten.....	32
Tabelle 3: Geräte	34
Tabelle 4: Substanzen	34
Tabelle 5: Lösungsmittel	35
Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien.	35
Tabelle 7: Software	36
Tabelle 8: Standardherstellungs- und Extraktionsschritte.....	41
Tabelle 9: Zielsubstrate.....	42
Tabelle 10: Probenquantität nach Studiengruppe und Probenkategorie.	46
Tabelle 11: Geschlechtsverteilung innerhalb der Studiengruppen.	47
Tabelle 12: Gewichtsverteilung innerhalb der Studiengruppen.	47
Tabelle 13: Anzahl SGA-Kinder innerhalb der Studiengruppen.....	48
Tabelle 14: Anzahl Mehrlinge innerhalb der Studiengruppen.....	49
Tabelle 15: Pränatale Kortikosteroid-Therapie innerhalb der Studiengruppen.	49
Tabelle 16: Altersverteilung der Mütter innerhalb der Studiengruppen.....	50
Tabelle 17: Ursachen der Frühgeburtlichkeit innerhalb der Studiengruppen....	50
Tabelle 18: Geburtsmodi innerhalb der Studiengruppen.	51
Tabelle 19: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Nabelschnur	55
Tabelle 20: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Mütter.	59
Tabelle 21: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Kinder zur BE1	64
Tabelle 22: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Kinder zur BE2	68
Tabelle 23: Gemessene Zielsubstrate	70
Tabelle 24: Statistische Kennzahlen der Konzentrationsunterschiede zwischen den Studiengruppen.....	71

Tabelle 25: Plasmakonzentration ausgewählter Mikronährstoffe in der Nabelschnur und mütterlichen Plasmaproben in Korrelation zum Gestationsalter	76
Tabelle 26: Statistische Auswertung der Konzentrationsunterschiede zwischen den Plasmaproben der Mütter, NS und der Kinder innerhalb der jeweiligen Studiengruppen.....	83
Tabelle 27: Korrelationsanalyse der Plasmakonzentration ausgewählter Purine/Pyrimidine zwischen mütterlichen Plasmaproben und Nabelschnur- bzw. kindlichen Plasmaproben.....	85
Tabelle 28: Korrelation ausgewählter Purin-/Pyrimidin-Konzentrationen mit dem pH-Wert in der Nabelarterie.....	86

Abkürzungsverzeichnis

Nukleotide, Nukleoside und chemischen Verbindungen

ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
cAMP	Zyklisches Adenosin 3',5'-Monophosphat
CDP	Cytidindiphosphat
CMP	Cytidinmonophosphat
DNA	<i>Desoxyribonucleic acid</i>
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
GDP	Guanosindiphosphat
GMP	Guanosinmonophosphat
hENT1	human equilibrative nucleoside transporter 1
hENT2	human equilibrative nucleoside transporter 2
IMP	Inosinmonophosphat
NAD	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
PRPP	5-Phosphoribosyl-1 α -pyrophosphat
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
TMP	Thymidinmonophosphat
UMP	Uridinmonophosphat

Abkürzungen allgemein

ANS	Atemnotsyndrom
BE	Blutentnahme
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CTG	Cardiotokogramm
D	Deutschland
DGEM	Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EE	Enterale Ernährung
ELBW	<i>Extremely Low Birth Weight</i>
ESI	Elektrospray-Ionisation

ESPHGAN	<i>European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i>
FG	Frühgeborenes
FGForm	Frühgeborenenformula
FortMM	Fortifizierter Muttermilch
GG	Geburtsgewicht
KU	Kopfumfang
LBW	<i>Low Birth Weight</i>
m/z	Masse/Ladung
Max.	Maximum
Med.	Median
Min.	Minimum
MM	Muttermilch
MMnFG	Muttermilch nach Frühgeburt
MS	Massenspektrometer
N	Anzahl
NapH	Arterieller Nabelschnur-pH
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
NG	Neugeborenes
NS	Nabelschnur
NWG	Nachweisgrenze
PDA	Persistierender Ductus Arteriosus Botalli
PE	Parenterale Ernährung
ROP	Retinopathie praematurorum
SD	Standarddeviation
SGA	<i>Small for gestational age</i>
SSW	Schwangerschaftswoche
TIC	<i>Total Ion Count</i>
VLBW	<i>Very Low Birth Weight</i>
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentrales Nervensystem

Chemische und physikalische Größen

Größensymbol	Bedeutung der Einheit	Einheitszeichen
g	Erdbeschleunigung	[m/s ²]
m	Masse	[µg] Mikrogramm [mg] Milligramm [g] Gramm [kg] Kilogramm
M	Molare Masse	[g/mol] Gramm/Mol
N	Stoffmenge	[mol] Mol [mmol] Millimol [µmol] Mikromol [nmol] Nanomol
P	Prozent	[%]
T	Temperatur	[°C] Grad Celcius
t	Zeit	[s] Sekunde [h] Stunde [d] Tag
V	Volumen	[µL] Mikroliter [mL] Milliliter [L] Liter

1 Einleitung

1.1 Frühgeburlichkeit

1.1.1 *Frühgeburt und Geburtsgewicht*

Die Frühgeburt wird laut Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als Geburt vor der abgeschlossenen 37. Schwangerschaftswoche (SSW) oder 259 Tage post menstruationem bezeichnet.

Vor errechnetem Geburtstermin geborene Säuglinge können entsprechend der SSW weiter unterteilt werden in extrem Frühgeborene (FG) (<28+0 SSW), sehr FG (28 SSW bis 31 6/7 SSW), mäßig FG (32 SSW bis 33 6/7 SSW) und spät vorzeitig FG (34 SSW bis < 36 6/7 SSW) (Keirse, 1995; Vogel et al., 2018).

Eine zusätzliche Kategorisierung FG erfolgt nach Geburtsgewicht (GG). Hierbei unterscheidet man frühgeborene Kinder mit einem extrem niedrigem GG (ELBW) unter 1000g, Kinder mit einem sehr niedrigem GG (VLBW) (1000 bis 1499 g) und Kinder mit niedrigem GG (LBW) (1500 bis 2499g).

1.1.2 *Epidemiologie*

Im Jahr 2021 meldete das Statistische Bundesamt 795 492 Lebendgeburten. Darunter liegt die Inzidenz einer Frühgeburt in Deutschland seit 2008 stabil um 8%. Die Inzidenz einer Frühgeburt vor der 32. SSW beträgt 1,42 % (Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), 2022; Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen, 2021). Auch wenn sich die Frühgeburtenrate insgesamt in den letzten 10 Jahren stabil hielt, nahm die Häufigkeit extremer Frühgeburten um 65% zu (Schleußner, 2013).

Insbesondere die verbesserte perinatale Versorgung führt zu einem deutlichen Anstieg der Überlebenschancen sehr früh geborener Kinder. Während vor 35 Jahren nur 25% der Kinder mit einem VLBW überlebten (Doyle & Casalaz, 2001), ist durch die verbesserte Intensivtherapie das Überleben der Kinder mit einem ELBW bereits vor 20 Jahren auf über 70% angestiegen (Hack et al., 2000).

Als wichtigste Fortschritte der neonatalen Intensivmedizin, die zur Verbesserung der Überlebenschancen führten, lassen sich die Einführung der

Lungenreifeinduktion bei bereits drohender Frühgeburt durch Gabe antenataler Steroide, die Gabe von Surfactant, die Verbesserung der Beatmungsmodalitäten, und nicht zuletzt das individuelle Ernährungsmanagement (Delnord & Zeitlin, 2019) nennen. Durch die genannten Maßnahmen konnte die Überlebenswahrscheinlichkeit entscheidend verbessert werden (Norberg, Kowalski, Maršál, & Norman, 2017).

1.1.3 Ätiologie und Risikofaktoren

Eine Frühgeburt stellt ein multifaktorielles Geschehen dar, bei dem diverse Faktoren eine pathophysiologische Kaskade auslösen. Am Ende kann daraus eine Geburt vor der vollendeten 37. SSW resultieren (*Institute of Medicine Committee on Understanding Premature Birth Assuring Healthy Outcomes, 2007*).

Zu unterscheidende Risikofaktoren für eine Frühgeburt sind sowohl fetale, maternale sowie sozioökonomische Ursachen (Maier & Obladen, 2017). Zu den fetalen Ursachen zählen neben „Triple I“ (intrauterine Inflammation und/oder Infektion), Mehrlingsschwangerschaften, ein Polyhydramnion, Chromosomenanomalien oder Fehlbildungen. Mütterliche Ursachen sind neben dem Alter (<20 Jahre und >40 Jahre) bereits vorangegangene Frühgeburten, das Vorliegen einer hypertensiven Schwangerschaftserkrankung, Anomalien des Uterus, eine Zervixinsuffizienz oder Plazentalokalisationsstörungen (Maier & Obladen, 2017). Hier anzuführen sind auch wichtige sozioökonomische Ursachen wie Stress, ein niedriger Ausbildungsgrad, Berufstätigkeit, Nikotin- und Drogenabusus und psychische Belastung (Maier & Obladen, 2017).

1.1.4 Herausforderungen der Frühgeburtlichkeit

Als zentraler Indikator für die Qualität der medizinischen Versorgung, aber auch insgesamt für die soziale und medizinische Entwicklung eines Landes, gilt die perinatale Mortalität (Lack & Schneider, 2005; Zeitlin et al., 2003). Diese ist genauer definiert als Sterblichkeit bezogen auf 1000 Geburten vor, während und bis 7 Tage nach der Geburt. Während mit der neonatalen Mortalität die Sterblichkeit bezogen auf 1000 Lebendgeburten bis zum 28. Lebenstag des NG beschrieben wird.

Für extreme Frühgeburten betrug die perinatale Mortalität in Deutschland im Jahr 2020 zuletzt 35,32 % und ist damit fast 300-mal so hoch wie die reifgeborener Kinder (0,13 %) (Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen, 2021).

In einer Studie zeigten FG, die direkt nach der Geburt in einem neonatologischen Zentrum versorgt wurden, eine geringere Mortalität, weniger nosokomiale Infektionen und eine verkürzte Abhängigkeit von zusätzlichem Sauerstoff als die Gruppe Kinder, die erst durch einen Transport zur Weiterbehandlung ins Zentrum verlegt werden mussten (Shah, Shah, Qiu, Ohlsson, & Lee, 2005).

Zusammenfassend trägt die Frühgeburt mit 70-85% damit wesentlich zur perinatalen Mortalität bei (Schleußner, 2013), und ist trotz verbesserter Behandlungsmöglichkeiten immer noch die häufigste Ursache neonataler Mortalität und Morbidität (Esplin, 2006).

1.1.4.1 Herausforderungen in der Neonatalperiode

Mit der vorzeitigen Geburt endet der Schutz des Kindes durch die intrauterine Versorgung. Die Organogenese wird unter nicht-physiologischen Umweltfaktoren, unter Anpassung der Stoffwechsel- und Homöostatikabläufe an die extrauterine Umgebung, vollendet.

Als Zeichen für die Unreife von Organsystemen und -funktionen steigt das Risiko für akute neonatale Erkrankungen mit geringerem Gestationsalter und GG an (Delnord & Zeitlin, 2019). Die Überlebenswahrscheinlichkeit sinkt dementsprechend mit abnehmendem Gestationsalter (Myrhaug, Brurberg, Hov, & Markestad, 2019) und abnehmendem GG (Jeschke et al., 2016).

Das Gehirn, der Darm und das kardiorespiratorische System sind an dieser Stelle bei FG als besonders gefährdete Organe bzw. Organsysteme hervorzuheben. Daraus resultieren typische Krankheitsbilder der Neonatalperiode FG. Hier zu nennen sind das Atemnotsyndrom (ANS), die Bronchopulmonale Dysplasie (BPD), ein Persistierender Ductus Arteriosus Botalli (PDA), die Retinopathie Praematurorum (ROP), die Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) und Hirnblutungen, sowie aufgrund der Unreife des Atemzentrums, eine Apnoe-

Bradykardie-Symptomatik. Zusammengefasst zeigt Tabelle 1 eine exemplarische Darstellung der akuten und chronischen Komplikationen, die als Folge einer Frühgeburt auftreten können.

1.1.4.2 Herausforderungen jenseits der Neonatalperiode

Die Frühgeburt ist einer der Hauptrisikofaktoren für *Disability-adjusted life years* („aufgrund von Krankheit, Behinderung oder frühem Tod verlorene gesunde Lebensjahre“) (Murray et al., 2012).

Bezogen auf langfristige Folgen der Frühgeburtlichkeit wird in der Literatur zwischen *Major Disabilities* und *Minor Disabilities* unterschieden. Zu den *Major Disabilities* zählen schwere bis mittlere geistige Behinderungen, neurosensorische Störungen (Blindheit und Taubheit), Epilepsien oder Zerebralpareesen. Laut (Eichenwald & Stark, 2008) können 40% aller infantilen Zerebralpareesen auf eine Frühgeburt zurückgeführt werden. *Minor Disabilities* beschreiben mildere Verläufe mit Entwicklungs-, Exekutivfunktionsstörungen und Verhaltensauffälligkeiten. Zu nennende Beispiele sind hier die Aufmerksamkeitsdefizit- und Hyperaktivitätsstörung und andere spezifische neuropsychologische Defizite und Verhaltensstörungen wie Reduktion der verbalen Flexibilität, des Intelligenzquotienten und des visuellen Gedächtnisses (Sammallahti et al., 2014). Diese Störungen werden aufgrund der späteren Manifestation häufig erst im Schulalter bemerkbar (Pietz et al., 2004; Sritipsukho, Suarod, & Sritipsukho, 2007).

Wie bereits (1.1.4) beschrieben, nimmt mit abnehmendem Gestationsalter und -gewicht sowohl die Mortalität als auch die Rate schwerer prognosebestimmender Komplikationen zu.

Tabelle 1: Akute und chronische Komplikationen als Folge einer Frühgeburt modifiziert nach Eichenwald et al. (Eichenwald & Stark, 2008)

Abkürzungen: ANS = Atemnotsyndrom, BPD = Bronchopulmonale Dysplasie, PDA = Persistierender Ductus Arteriosus Botalli, ROP = Retinopathie praematurorum, NEC = Nekrotisierende Enterokolitis.

Organsystem	Akute Komplikationen	Chronische Komplikationen
Herz-Kreislauf-System	PDA, arterielle Hypotension	Pulmonale Hypertension, arterielle Hypertonie im Erwachsenenalter
Lunge	ANS, Apnoe-Bradykardie-Symptomatik	BPD, Asthma bronchiale, COPD
Gastrointestinal-Trakt, Ernährung	Nahrungsintoleranz, NEC, Wachstumsretardierung, Hyperbilirubinämie	Gedeihstörung, Kurzdarmsyndrom, Cholestase, metabolisches Syndrom
Immun-/Hämatologisches System	Iatrogene Anämie, Transfusionsbedarf, Infektionen	Infektionsanfälligkeit
Niere-/Urogenitaltrakt Hormonelles System	Wasser-/ Elektrolyt-/ Säure-Basen Ungleichgewicht	Diabetes mellitus, Insulinresistenz
Zentralnervensystem (ZNS)	Intrazerebrale Blutung, periventrikuläre Leukomalazie, Hydrocephalus	Zerebralparese/-atrophie, neurokognitive Störungen, Taubheit
Augen	ROP	Erblindung, Myopie, Strabismus, Einschränkung des Gesichtsfeldes

1.2 Ernährung von Frühgeborenen

Im Vergleich zu reifen Neugeborenen (NG) verfügen FG nach ihrer Geburt unter anderem aufgrund von wenig subkutanem Fettgewebe, und geringen Glykogenreserven der Leber nur über geringe Nahrungsreserven. Dem gegenüber steht ein hoher Nährstoffbedarf, um die Organfunktionen aufrecht zu erhalten (Fusch et al., 2009). Diese Ausgangssituation führt zu einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Hypoglykämien in der Neonatalperiode und einer Wachstumsverzögerung im Verlauf (Fusch et al., 2009).

Ziel der Ernährung FG in der frühen Lebensphase ist daher ein Nahrungsregime zu etablieren, welches ein Wachstum entsprechend der intrauterinen Wachstumskurven ermöglicht (Fusch et al., 2009; Koletzko, Jauch, Krohn, & Verwied-Jorky, 2007). Intrauterin findet die Nährstoffversorgung über die Plazenta statt, wobei der Metabolismus der Nährstoffe dabei durch den Fötus selbst reguliert und dem aktuellen Bedarf individuell angepasst werden kann.

Eine dem hohen Bedarf entsprechende Nährstoffzufuhr im frühen postnatalen Leben ist essenziell, um eine altersentsprechende Körperzusammensetzung, ein adäquates Wachstum und damit einhergehend eine regelrechte neurologische Entwicklung und Organogenese zu gewährleisten (Roggero et al., 2009).

Eine optimierte Ernährung kann das Auftreten von akuten Komplikationen und damit sowohl das Entstehen akuter wie chronischer Krankheitsverläufe als Folge der Frühgeburtlichkeit positiv beeinflussen (Bhat & Gupta, 2003).

Eine frühe Wachstumsverzögerung ist perspektivisch mit einer schlechteren neurokognitiven und motorischen Entwicklung assoziiert (Bonnar & Fraser, 2019; Gianni et al., 2012). In einer Studie von Franz et al. zeigte sich, dass in der Gruppe ehemaliger extrem FG eine höhere Gewichts- und Kopfumfangszunahme zwischen Geburt und Entlassung mit einem verringerten Risiko für neurokognitive Auffälligkeiten im Alter von 5 Jahren verbunden ist (Franz et al., 2009). Dieser Zusammenhang konnte in einer Studie von Ehrenkranz et al. bei einem selteneren Auftreten von Zerebralpareesen (Ehrenkranz et al., 2006), sowie durch eine Studie von Sammallahti et al. (Sammallahti et al., 2014), bei der eine Assoziation mit besseren

neurokognitiven Fähigkeiten im jungen Erwachsenenalter hergestellt wurde, ebenfalls bestätigt werden.

Im Hinblick auf die verbesserten Möglichkeiten der Versorgung unreif geborener Kinder spielt daher als ein Baustein die Ernährung eine entscheidende und zentrale Rolle.

1.2.1 Muttermilch

In den letzten Jahrzehnten ist der immense Nutzen von Muttermilch (MM) für die Ernährung von NG immer deutlicher geworden. Die ausschließliche Ernährung mit MM in den ersten sechs Lebensmonaten und die Fortsetzung für 1 bis 2 Lebensjahre oder länger ist als normativer Standard durch die WHO empfohlen (Victora et al., 2016).

MM als Grundpfeiler der Ernährung NG wird gegenüber Muttermilchersatznahrungen aufgrund ihres positiven Einflusses auf Wachstum (Lucas et al., 1997) und Entwicklung (Anderson, Johnstone, & Remley, 1999; Kramer et al., 2008) bevorzugt.

MM ist in einzigartiger Weise auf die Bedürfnisse des Säuglings abgestimmt (Victora et al., 2016). Sie fördert sowohl hinsichtlich ihrer Nährstoffzusammensetzung als auch weiterer bioaktiven Faktoren wie z.B. Wachstumsfaktoren das Überleben und die gesunde Entwicklung der Kinder (Mosca & Gianni, 2017). Neben der bestmöglichen Resorption der enthaltenen Nährstoffe bietet die Ernährung mit MM zudem immunologische Vorteile durch enthaltene Immunglobuline und Zytokine (Ballard & Morrow, 2013). Es gibt eine klare Evidenz über den Schutzeffekt von MM bei der Entstehung diverser Komplikationen der Frühgeburtlichkeit wie NEC, ROP, BPD und dem Auftreten einer Late-onset Sepsis (Miller et al., 2018). So konnte beispielhaft in zwei unabhängigen Studien von Lucas und Cole (1990) und Sisk et al. (2007) das Risiko für die Entstehung einer NEC bei Ernährung mit MM um das Vierfache (Lucas & Cole, 1990) bzw. Sechsfache (Sisk, Lovelady, Dillard, Gruber, & O'Shea, 2007) reduziert werden.

1.2.2 Supplementierung der Muttermilch

Die Zusammensetzung der MM und die Konzentrationen einerseits von Makronährstoffen wie Proteine, Lipide und Kohlenhydrate, und andererseits von diversen Mikronährstoffen sind sowohl im Tagesverlauf als auch im Laufe der Stillzeit starken Schwankungen unterlegen. Dies ist einerseits durch die individuelle Ernährung der Mutter bedingt, entspricht aber auch den Bedürfnissen des wachsenden, reifen Säuglings.(Ballard & Morrow, 2013).

Bei FG scheint, im Vergleich zu Reifgeborenen, die alleinige Gabe von MM der besonderen Herausforderung des erhöhten Nährstoffbedarfs aufgrund der hohen Wachstumsrate nicht auszureichen (Koletzko et al., 2007). Während das Wachstum NG zwischen 5 und 7 g/kg/d liegt, wachsen FG um den Faktor zwei bis drei schneller (Landau-Crangle et al., 2018). Für das Wachstum ist unter anderem die Aufnahme von ausreichend Eiweiß, Kohlenhydraten und Calcium entscheidend. MM liefert hier die empfohlenen Mengen nicht ausreichend (Arslanoglu et al., 2019), so dass eine Supplementierung notwendig wird.

Das Ziel der Anreicherung ist, die Nährstoffkonzentration der MM so weit zu erhöhen, dass FG bei den empfohlenen Fütterungsmengen alle Nährstoffe in bedarfsgerechter Menge erhalten. Dabei wird der Bedarf für die meisten Nährstoffe wie Proteine, Fette und Mineralien durch die Analyse der fetalen Körperzusammensetzung in verschiedenen Schwangerschaftsstadien abgeleitet (Ziegler, 2011, 2014). Die MM wird daher standardmäßig mit sogenannten „Multikomponenten-Fortifiern“ angereichert, die neben zusätzlichen Makronährstoffen und Mineralien auch einige Mikronährstoffe, wie Vitamine und Spurenelemente, enthalten.

Ob die Ernährung von FG mit nach aktuellem Standard angereicherter MM jedoch den Bedarf an bestimmten bisher wenig beachteten Mikronährstoffen, wie unter anderem Nukleotide oder Nukleoside ausreichend deckt, ist Gegenstand aktueller Untersuchungen.

Im Folgenden muss in der Ernährung von Frühgeborenen also unterschieden werden zwischen MM, der MM nach einer Frühgeburt (MMnFG), die sich in der

Zusammensetzung von MM Reifgeborener unterscheidet, fortifizierter Muttermilch (FortMM) und Frühgeborenenformula (FGForm).

1.2.3 Nahrungsregime in Tübingen

Orientierend an den Empfehlungen der *European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* (ESPGHAN) erfolgt die Ernährung der FG in der Abteilung für Neonatologie der Universitätsklinik Tübingen anhand eines standardisierten Ernährungsregimes (Mihatsch et al., 2018).

1.2.3.1 Parenterale Ernährung (PE)

Um bereits in der frühen postnatalen Phase, bei nur eingeschränkten Energiereserven, ein Wachstum parallel zu den intrauterinen Wachstumskurven (siehe 1.2) zu erreichen und um den hohen Makronährstoff-, insbesondere Eiweißbedarf der FG, zu decken, ist direkt nach der Geburt eine (Teil-) PE erforderlich.

Zur Optimierung der kalorischen Versorgung und Vermeidung von Hypo- und Hyperglykämie, sollte der Grundumsatz an Glucose gedeckt werden. Zur Durchbrechung der postnatalen Katabolie, dem signifikant besseren Wachstum und in Konsequenz verbessertem neurologischen Outcome kommt den Aminosäuren in der Ernährung FG eine besondere Rolle zu (Morgan, McGowan, Herwitker, Hart, & Turner, 2014). Eine höhere parenterale Eiweißzufuhr in der ersten Lebenswoche bei gleicher Gesamteiweißzufuhr war in einer Studie von Maas et al. mit einem besserem Kopfumfangs (KU)-Wachstum assoziiert (Maas et al., 2013). Die Lipidzufuhr zur Versorgung mit essenziellen und mehrfach ungesättigten Fettsäuren, sowie zur Förderung der Proteinsynthese durch Bereitstellung von Energie, zeigte eine gute Toleranz ab dem ersten Lebenstag (Vlaardingerbroek, Veldhorst, Spronk, van den Akker, & van Goudoever, 2012) und führte zu einer besseren Gewichtszunahme (Drenckpohl, McConnell, Gaffney, Niehaus, & Macwan, 2008). Die Hinzugabe von wasserlöslichen Vitaminen zur Lipidemulsion reduziert die Lipidperoxidation (Silvers et al., 2001).

Um die Nebenwirkungen der totalen PE, wie die PE-assoziierten Cholestase, zu minimieren, sollte der prozentuale Anteil an der Gesamt-Energiezufuhr durch die stufenweise Einführung enteraler und oraler Ernährung so schnell wie möglich

zur partiellen PE reduziert werden, bis sie schlussendlich komplett durch enterale oder orale Ernährung ersetzt werden kann.

1.2.3.2 Enterale Ernährung (EE)

Unter EE können FG unter anderem aufgrund der bereits beschriebenen Unreife des Darms, die verabreichten Makronährstoffe nicht vollständig resorbieren.

Eine Resorptionsquote von ca. 80 bis 90 % wird bei EE von FG erst nach mehreren Lebenswochen erreicht (Schanler, Shulman, & Lau, 1999). Auch wird unter Umständen nur ein Teil der verabreichten Nahrungsmenge überhaupt aus dem Magen in den Darm transportiert. Beides führte in Tübingen zur Empfehlung, die enterale Zufuhr von Makronährstoffen und Flüssigkeit nur teilweise in die Gesamtkalkulation einzuberechnen - insbesondere in den ersten Lebenstagen.

In der Abteilung Neonatologie der Universitätskinderklinik Tübingen wird ab dem ersten Lebenstag rasch mit einer EE begonnen, wann immer möglich mit MM. Frühe EE verhindert Darmatrophie und fördert die Darmentwicklung und Darmmotilität. Sie führt zur Stimulation enteraler Hormonproduktion, bietet Infektionsschutz durch Maturation des Darmimmunsystems, erhöht die Kalorienzufuhr und führt damit zu rascherem und besserem Gedeihen, schnellerem Wiedererreichen des Geburtsgewichts und kürzerem Krankenhausaufenthalt (Agostoni et al., 2010; Johnson et al., 2022). Aufgrund der Unreife des Darms und des eingeschränkten Resorptionsvermögens werden beim Konzept der stufenweisen Nahrungssteigerung die Volumina kleinschrittig unter Berücksichtigung der Nahrungsverträglichkeit durch Beurteilung des Magenrestes gesteigert, um Passagestörungen und Frühzeichen einer NEC rechtzeitig zu erkennen und schwerwiegende Komplikationen zu vermeiden. Wie bereits (1.2.1) beschrieben, sollte der MM ab einer enteralen Nahrungszufuhr von 100 ml/kg ein Multikomponenten-Fortifier (FM 85) hinzugefügt werden, mit dem Ziel eine ausreichende Zufuhr an Eiweiß, Energie und Mineralien zu erreichen. In Summe sollte eine Gewichtszunahme von 15 bis 20 g/kg/d, ein Längenwachstum von 0,8 bis 1,0 cm/Woche und ein KU-Wachstum von 0,5 – 0,8 cm/Woche angestrebt werden.

1.3 Nukleotide

Bei der Erforschung optimaler Ernährungsbedingungen für FG spielt die Substitution von Mikronährstoffen eine immer größer werdende Rolle. Angesichts der hohen Wachstumsrate und der bei stattgehabter Frühgeburt vorzeitig beendeter Nährstoffversorgung über die Plazenta ist bislang nicht hinreichend geklärt, welche Mikronährstoffe für das FG essenziell sind, bisher unzureichend zugeführt werden, und der Frühgeborenenernährung aktiv zugesetzt werden müssen. Aktuell gibt es unter anderem keine geltenden Referenz- und Zielwerte bezüglich einer Substitution von Nukleotiden. Aktuellen Erkenntnissen folgend könnten diese oben genanntes Nahrungsregime erfolgreich ergänzen und daraus resultierende positive Auswirkungen auf das Wachstum und die Entwicklung FG haben (Lerner & Shamir, 2000).

Allgemein ist ein Nukleotid aus einer Base (einem Purin- oder Pyrimidinderivat), einem Zucker (Pentose) und einem oder mehreren Phosphatresten aufgebaut (Rassow, Netzker, & Hauser, 2022).

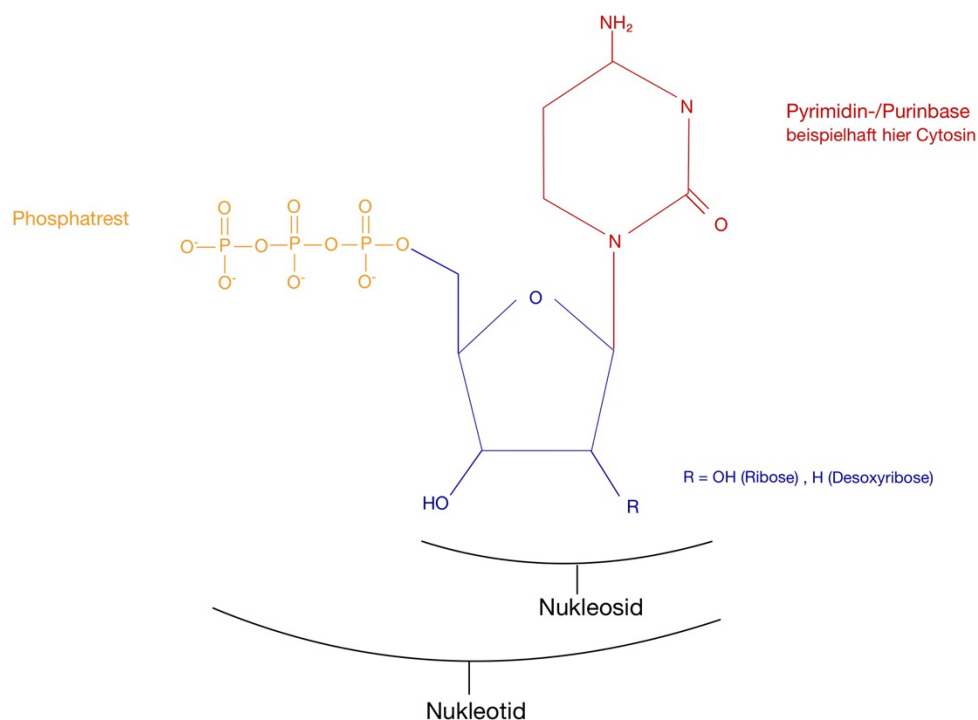


Abbildung 1: Strukturformel Nukleotid.

Abkürzungen: H = Wasserstoff, N = Stickstoff, O = Sauerstoff, P = Phosphat, R = Rest (beliebiges Element)

Die reine N-glykosidische Bindung zwischen Base und Zucker bezeichnet die Verbindung als Nucleosid, während die zusätzliche Esterbindung zwischen dem Nucleosid und dem Phosphatrest am 3'- oder 5'-C-Atom des Zuckers die Verbindung zum sogenannten „Nucleotid“ oder Nucleosidmonophosphat macht.

Nucleotide werden zusammengefügt als lange Ketten, sogenannte Polymere von Nucleotiden, als Nucleinsäuren bezeichnet. Hierbei bezeichnet die Primärstruktur die einzelne Nucleotidabfolge in der Kette. Die Zuckerreste und Phosphatreste der einzelnen Nucleotide bilden das Rückgrat, während die Pentosereste selbst über Phosphatdiesterbrücken verknüpft sind (Rassow et al., 2022).

1.3.1 Nucleinsäurebasen

Nucleinsäurebasen sind heterozyklische Purin- und Pyrimidinderivate. Als organische Stammverbindung haben Purine und Pyrimidine gemeinsam, dass sie zur Stoffgruppe der Heterozyklen, genauer Heteroaromaten, zählen (Rassow et al., 2022).

1.3.1.1 Pyrimidine

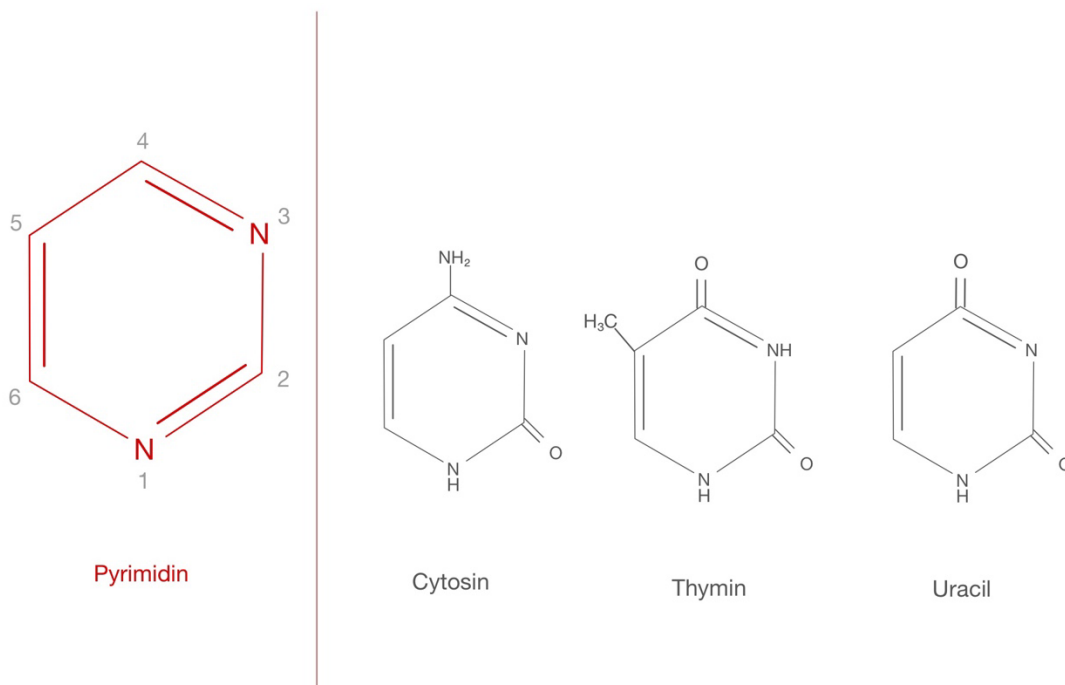


Abbildung 2: Strukturformel Pyrimidinbasen.
Abkürzungen: C = Kohlenstoff, H = Wasserstoff, N = Stickstoff, O = Sauerstoff.

Pyrimidin (siehe Abbildung 2) ist ein sechsgliedriges, heterozyklisches aromatisches Amin mit zwei Stickstoffatomen. Nach systematischer Nomenklatur kann es auch als 1,3-Diazin bezeichnet werden. Die Summenformel ist $C_4H_4N_2$ (Rassow et al., 2022).

In diesem Aufbau ist es der Grundkörper der sogenannten Pyrimidine oder Pyrimidinbasen. Hierzu zählen Cytosin, Thymin und Uracil.

Pyrimidine können vom Körper entweder neu synthetisiert oder wiederverwertet werden. Im Gegensatz zu Purinnukleotiden können Pyrimidinnukleotide jedoch komplett abgebaut und daraufhin dem Stoffwechsel zur Energiegewinnung zur Verfügung gestellt werden. Am Ende werden neben CO_2 und NH_3 , die freigesetzt werden, β -Alanin und β -Aminoisobutyrat bereitgestellt, die weiterführend als Malonyl-CoA bzw. Methylmalonyl-CoA dem Stoffwechsel zur Verfügung gestellt werden (Rassow et al., 2022).

1.3.1.2 Purine

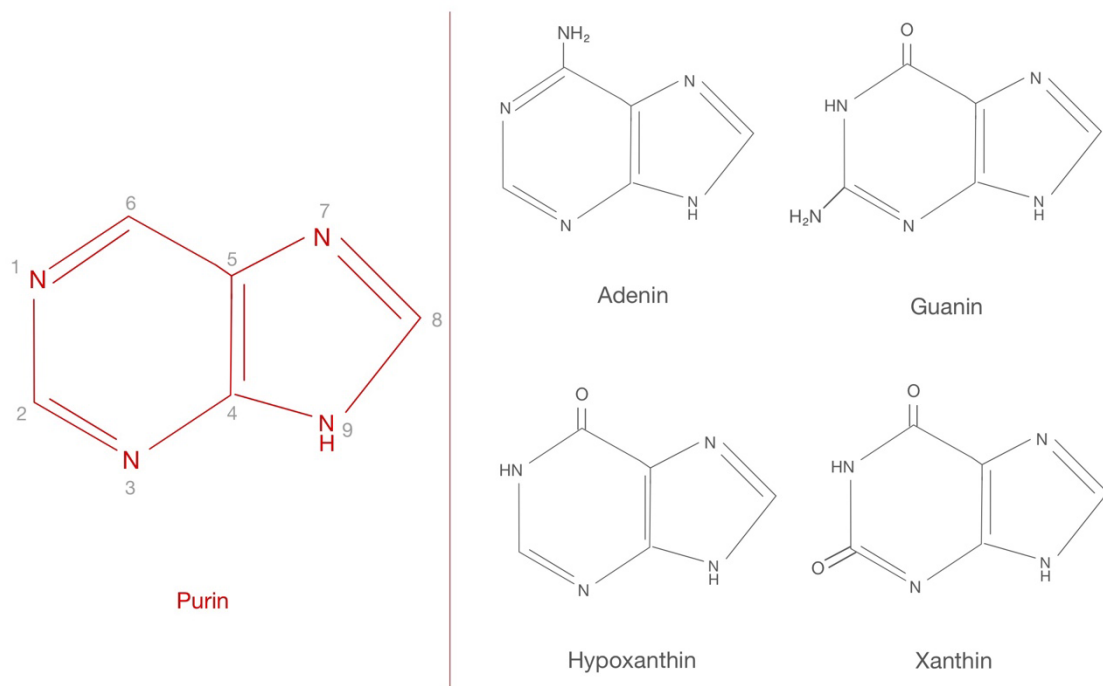


Abbildung 3: Strukturformel Purinbasen.
Abkürzungen: H = Wasserstoff, N = Stickstoff, O = Sauerstoff.

Ein Purin ist ein heterobizyklisches aromatisches Amin mit vier Stickstoffatomen. Als Molekül kann es als kondensiertes Ringsystem, zusammengesetzt aus den

beiden Heterozyklen Pyrimidin und Imidazol, aufgefasst werden, weshalb der systemische Name 3,5,7-Triazaindol oder 7H-Imidazol[4,5-d]pyrimidin lautet. Die Summenformel ist somit $C_5H_4N_4$. Wenn die Wasserstoffatome in den Positionen 2, 6 und 8 durch andere Reste ersetzt werden, ergeben sich verschiedene substituierte Purine wie Adenin, Guanin, Hypoxanthin und Xanthin (Rassow et al., 2022).

Bei der Synthese von Purinbasen ist ebenfalls wie bei den Pyrimidinen die *de-novo*-Synthese von der Wiederverwertung über den *Salvage-Pathway* zu unterscheiden. Bei Ersterem wird der Purinkern aus 5-Phosphoribosyl-1 α -Pyrophosphat (PRPP) in 10 Reaktionsschritten zu Inosin-5'-monophosphat (IMP), dann in je zwei weiteren Schritten zu Adenosin-5'-monophosphat (AMP), bzw. Guanosin-5'-monophosphat (GMP) umgesetzt. Dieser Weg ist im Vergleich zum *Salvage-Pathway*, bei dem freie Purinbasen im Körper direkt mit PRPP zu Purinnukleotiden umgesetzt werden, sehr energieaufwendig (Rassow et al., 2022). Das Purinringsystem kann zum Abbau nicht enzymatisch gespalten werden, weshalb es in Harnsäure überführt und mit dem Urin ausgeschieden wird (Rassow et al., 2022).

1.3.2 Bedeutung für den Stoffwechsel

Nukleotide spielen eine Schlüsselrolle in zahlreichen intrazellulären biochemischen Prozessen und sind dadurch für die Funktion des lebenden Körpers wesentlich (Cosgrove, 1998).

Als Nukleinsäuren tragen sie als DNA und RNA den genetischen Code (Lerner & Shamir, 2000), in der Biosynthese sind sie sowohl an der Synthese von Laktose als auch am Prozess der Gluconeogenese beteiligt. Als Bestandteil von Coenzymen wie Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD) und Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD), oder als biologische Regulatoren in der Funktion von Second-Messengern wie dem zyklischen Adenosin 3',5'-Monophosphat (cAMP), tragen sie zur grundlegenden Regulierung biologischer Prozesse bei und fungieren dabei als ATP auch noch als universelle Energiequelle des gesamten Organismus (Lerner & Shamir, 2000).

Purin und Pyrimidinnukleotide können im Körper einerseits komplett neu recycelt werden (de-novo-Synthese) oder aber aus Abbauprodukten wieder hergestellt werden (*Salvage-Pathway*) (1.3.1). Während die Neusynthese der Grundgerüste sehr energieaufwendig ist und deshalb stark reguliert wird, kann durch die Wiederverwendung freierwerdender Nukleinbasen beim Abbau von Nucleinsäuren, oder durch die Aufnahme dieser durch intestinale Resorption, Energie gespart werden.

1.3.3 Nukleotide als konditionell essenzielle Nährstoffe

Da Nukleotide auch durch de-novo-Synthese gebildet werden können, gelten sie im eigentlichen Sinne nicht als essenzielle Nährstoffe. Pathophysiologisch scheint jedoch wahrscheinlich, dass die Versorgung mit Nucleotiden einzig durch de-novo-Synthese besonders für schnell wachsende Gewebe, wie den Magen-Darm-Trakt und das hämatopoetische System nicht ausreichend ist. Diese Gewebe im Besonderen haben eine begrenzte Kapazität der de-novo-Nucleotidsynthese und obwohl eine geringe Nucleotidzufuhr nicht direkt zu einem klinischen Defizit führt, scheint eine exogene Zufuhr von Nucleotiden für die optimale Versorgung und regelrechte Funktion schnell wachsender Gewebe wichtig (Aggett, Leach, Rueda, & MacLean, 2003; Cosgrove, 1998; Yu, 2002).

Auch intrauterin gelangen mütterliche Nucleotide und Nucleoside über plazentare Zellen in den fetalen Kreislauf. Dies geschieht durch erleichterte Diffusion, Natrium-abhängige Kanäle und Transporter wie den „human equilibrative nucleoside transporter 1“ (hENT1) und den „human equilibrative nucleoside transporter 2“ (hENT2)(Griffiths et al., 1997). Bricht die plazentare Versorgung nach der Geburt ab, könnten in diesem Zusammenhang Nucleotide für FG aufgrund des raschen Wachstums und deren Organreifeung, bereits als konditionell essenzielle Nährstoffe angesehen werden.

1.3.4 Supplementierung von Nucleotiden

Es stellt sich die Frage, ob angesichts des schnellen Wachstums, bestimmter Krankheitszustände, gestörter endogener Synthese und eines noch nicht ausgebildeten Immunsystems, eine Supplementierung der eigentlich nicht-essenziellen Nucleotide helfen könnte um optimal auf die Anforderungen des

Organismus FG einzugehen und folglich Wachstum und Entwicklung FG zu verbessern.

1.3.4.1 Nukleotide und Nukleoside in Muttermilch

Es wird geschätzt, dass ein Säugling, dessen primäre Nahrungsquelle MM ist, 1,4 – 2,1 mg Nukleotid-Stickstoff pro Tag zu sich nimmt (Janas & Picciano, 1982). Dies bedeutet, dass MM ca. 50-150 µmol/L Nukleotid-Stickstoff (Yu, 2002) enthält. Dabei scheint die Konzentration abhängig von der Ernährung der Mutter (Yu, 2002) und in Abhängigkeit der Laktationswoche zwischen 82 – 402 µmol/L zu variieren (Lerner & Shamir, 2000).

MM enthält im Vergleich zu Kuhmilch einen prozentualen Anteil von 15 – 20% Nukleotide, die einen nicht proteinogenen Ursprung haben (Liao et al., 2011). D.h. weder in der DNA codiert, noch für die Proteinbiosynthese verwendet werden. Bei Kuhmilch beträgt dieser Anteil 2 – 5% (Liao et al., 2011). Daneben unterscheidet sich die MM auch in der Konzentration der nachgewiesenen Nukleotide von Kuhmilch, auf deren Basis Formula Nahrung hergestellt wird. In MM konnten neun Nukleotide (AMP, ADP, CMP, CDP, GMP, GDP, IMP), in Kuhmilch dagegen lediglich zwei (AMP, ADP) detektiert werden (Janas & Picciano, 1982). Ein Vorteil der Ernährung mit MM im Vergleich zur FGForm kann unter anderem möglicherweise durch diese hohe Zufuhr vielfältiger Nukleotide erklärt werden (Singhal et al., 2010).

1.3.4.2 Nukleotide und Nukleoside in FGForm

Die auf Kuhmilch basierende Formula-Nahrung soll den Inhaltsstoffen der MM möglichst ähnlich sein, weswegen bezugnehmend auf die Nukleotidzusammensetzung in Europa seit 1983 Nukleotide der NGForm und seit 2002 der FGForm, zugefügt werden. Dabei ist die Supplementierung auf AMP, CMP, GMP, IMP und Uridinmonophosphat (UMP) beschränkt. Genaue Angaben zum Nukleotidgehalt werden in den Packungsbeilagen der Hersteller nicht angegeben. In der Nahrung Nestlé® Beba®, die in der Universitätskinderklinik Tübingen standardmäßig für die Ernährung von FG und NG verwendet, setzt sich der Nucleotidgehalt wie in Tabelle 2 ersichtlich zusammen.

Tabelle 2: Nukleotidgehalt in Nestlé ® BEBA®-Produkten.
 (Angaben auf persönliche Anfrage per Mail Nestlé Nutrition GmbH Frankfurt;
 (Possner), 12.09.2024.

Produkt	Nukleotidgehalt pro 100 kcal
BEBA OPTIPRO PRE	2,9mg/100kcal
BEBA HA PRE	2,9mg/100kcal
FGN 1 trinkfertig	Keine Angabe in der Rezeptur
FGN 2 trinkfertig	3,3mg/100kcal
FGN 2 Pulver	Keine Angabe in der Rezeptur
FM 85	Keine Angabe in der Rezeptur

1.3.4.3 Effekte der Supplementierung von Nukleotiden

Verschiedene Studien zeigten, dass eine Nukleotid-Supplementation zu einer verbesserten Gewichtszunahme (Wang, Mu, Xu, Shi, & Shen, 2019) und Kopfwachstum führt (Singhal et al., 2010). Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen konnte in Bezug auf Wachstum und Reifung des Darms in einer Untersuchung an Ratten nachgewiesen werden, dass die Substitution mit Nukleotiden, die Zottenhöhe und die Disaccharidase-Aktivität erhöht (Uauy, Stringel, Thomas, & Quan, 1990), die Erholung der Darmschleimhaut nach experimentell induzierter Diarrhoe verbessert (Bueno et al., 1994; Nuñez, Ayudarte, Morales, Suarez, & Gil, 1990) sowie den postprandialen Blutfluss in den Mesenterialarterien von Kindern steigert (Carver et al., 2002; Ozkan, Oren, Erdag, & Cevik, 1994).

Im Hinblick auf das gastrointestinale Mikrobiom konnte nachgewiesen werden, dass Nukleotide das Wachstum von Bifidobakterien fördern, (Gyllenberg & Carlberg, 1958; Tanaka & Mutai, 1980) und daraus schlussfolgernd eine Nukleotid-Supplementierung die Zusammensetzung des Darmmikrobioms bei Säuglingen verbessert (Singhal et al., 2008).

Eine Nukleotidsubstitution hat außerdem nachweislich positive Auswirkungen auf die Reifung des Immunsystems (Gutiérrez-Castrellón et al., 2007; Hawkes, Gibson, Robertson, & Makrides, 2006). Dabei beeinflusst diese sowohl das humorale als auch das zelluläre Immunsystem (Buck et al., 2004). Es konnte nachgewiesen werden, dass orale Nukleotide die Antikörperreaktion auf

routinemäßige, pädiatrische Impfungen signifikant erhöht (Pickering et al., 1998). Schlussfolgernd ist von einer erhöhten Immunantwort und einer Stärkung des Immunsystems des Säuglings durch die Substitution von Nukleotiden auszugehen.

Zusätzlich scheinen Nukleotide insbesondere in der kritischen Periode des Gehirnwachstums eine entscheidende Rolle zu spielen und das langfristige, kognitive Outcome positiv zu beeinflussen (Singhal et al., 2010). Ebenfalls konnte nachgewiesen werden, dass eine Nukleotid-Supplementierung die Plasmakonzentration langkettiger, mehrfach ungesättigter Fettsäuren, die entscheidend für das Wachstum und die Entwicklung von Säuglingen sind, signifikant erhöht (Wang, Liu, Lv, Zhang, & Shen, 2015).

Auch wenn es mittlerweile als bestätigt gilt, dass eine mit Nukleotiden angereicherte Nahrung, positive Effekte auf frühe Phasen des menschlichen Lebens hat (Lerner & Shamir, 2000), bleibt zu beweisen, welche Nukleotide in welcher Konzentration und welchen Anteilen der physiologischen Norm entsprechen, um eine gezielte Supplementierung zu ermöglichen.

1.4 Fragestellung der Studie

Das primäre Ziel dieser Beobachtungsstudie ist es die Konzentrationen von Purinen und Pyrimidinen sowie deren Derivaten im Blutplasma der NS, der Mütter und der Kinder zum Zeitpunkt der Geburt und nach 14 Tagen Neonatalperiode zu bestimmen.

Daran anschließend gilt zu prüfen, ob:

- Konzentrationsunterschiede in den Blutplasmaproben zwischen den mütterlichen, kindlichen und den NS-Proben bestehen.
- die Konzentrationen in den Blutplasmaproben der Mütter, der Kinder und den NS-Proben in Abhängigkeit des Gestationsalters Unterschiede zwischen Früh- und Reifgeborenen aufweisen.
- sich die Konzentrationen in den kindlichen Plasmaproben zwischen der Geburt und zwei Wochen postnatalen Alters verändern.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 *Geräte*

Tabelle 3: Geräte

Abkürzungen: D = Deutschland

Gerät	Firma; Firmensitz
Analytische Waage (SI234A)	Denver Instruments; Denver, USA
Biopak Endfilter (Wasseraufbereitung)	Merck Millipore; Darmstadt, DI
Eppendorf Research Pipetten 100, 250, 500, 1000µl	Eppendorf AG; Hamburg, D
Gefrierschrank Electrolux -40°C	Electrolux AG (Medical Refrigeration); Zürich, Schweiz
Gefrierschrank SANYO -80°C	Stiehl Kälte-und Klimatechnik; Tübingen, D
Kühlschrank (computer control cooler)	Robert Bosch GmbH; Gerlingen-Schillerhöhe, D
Magnetrührer mit Heizung, RCT basic	IKA Werke GmbH&Co.KG; Staufen im Breisgau, D
Massenspektrometer <ul style="list-style-type: none"> • TSQ Quantum – Ultra • Quaternäre HPLC Pumpe, Finnigan Surveyor MS Pump Plus • Automatischer Probenaufgeber – Finnigan Surveyor Autosampler Plus • Xcalibur 4.3 data acquisition software 	Thermo Fisher Scientific GmbH; Dreieich, D
Messzylinder Duran 25ml, 50ml, 500ml, 1000ml	Hirschmann Laborgeräte GmvH&Co.KG; Eberstadt, D
Mikroliterspritze Hamilton 0,1ml, 0,025ml, 0,5ml	Hamilton Company; Reno, Nevada, USA
Multidispenser Handy Step®S	Brand GmbH & CO KG; Wertheim, D
Pyrex®-Black-Cap-Röhrchen 16x100mm Wiederverschließbar	Coming Inc; New York, USA
Vortex (Reax Top)- Rüttler	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG; Schwabach, D
Zentrifuge (Megafuge 1.0)	Heraeus Holding GmbH; Hanau, D

2.1.2 *Substanzen und Lösungsmittel*

Tabelle 4: Substanzen

Reagenz	Firma; Firmensitz	Lagerung
Adenin	Sigma Aldrich Chemie GmbH; Steinheim, Deutschland	Kühlschrank (4°C)
Adenin-1,3-15N2		Raumtemperatur
Adenosin		Kühlschrank (4°C)
Adenosin-15N5,5-Monophosphat Natriumsalz		Gefrierfach (-20°C)
Adenosin-5´-monophosphorsäure Monohydrat		Gefrierfach (-20°C)

Fortsetzung Tabelle 4: Substanzen

Reagenz	Firma; Firmensitz	Lagerung
Cytidin	Sigma Aldrich Chemie GmbH; Steinheim, Deutschland	Gefrierfach (-20°C)
Cytidine 5´-Monophosphate Dinatriumsalz		Gefrierfach (-20°C)
Cytosin		Gefrierschrank (-20°C)
Guanin		Kühlschrank (4°C)
Guanosin		Gefrierfach (-20°C)
Guanosin 5´-Monophosphat Dinatriumsalz Hydrat		Gefrierfach (-20°C)
Hypoxanthin		Kühlschrank (4°C)
Inosin		Gefrierfach (-20°C)
Inosin 5´-Monophosphat Dinatriumsalz Hydrat		Gefrierfach (-20°C)
Thymidin		Gefrierfach (-20°C)
Thymidin-5´-monophosphat Dinatriumsalz Hydrat		Gefrierfach (-20°C)
Thymin		Gefrierfach (-20°C)
Uracil		Kühlschrank (4°C)
Uridin		Kühlschrank (4°C)
Uridin-5,6-d2	CDN Isotopes; Pointe-Claire, Kanada	Raumtemperatur
Uridin-5´-Monophosphat Dinatriumsalz	Sigma Aldrich Chemie GmbH; Steinheim, Deutschland	Gefrierfach (-20°C)
Xanthin		Kühlschrank (4°C)

Tabelle 5: Lösungsmittel

Chemikalie	Firma; Firmensitz	Aufbewahrung
Acetonitril	Carl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland	Raumtemperatur im Sicherheitsschrank
Ameisensäure	Sigma Aldrich Chemie GmbH; Steinheim, Deutschland	
Chloroform	J.T. Baker; Gliwice Poland	
Methanol	Carl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland	
Wasser (gereinigt)	Honeywell; Morristown, USA	

2.1.3 Verbrauchsmaterial

Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien.

Abkürzungen: EDTA - Ethylendiamintetraessigsäure

Material	Firma; Firmensitz	Methode
EDTA-Röhrchen	Kabe Labortechnik GmbH Nürnberg-Elsenroth	Aufbewahrung der präparierten Blutproben
Eppendorf-Cups	Greiner Bio-One GmbH; Frickenhausen, Deutschland	Aufbewahrung der präparierten Blutproben
Glaspipette - Pasteur Pipetten	WU MAINZ; Bamberg, Deutschland	Extraktion
Hilic Plus Säule	Agilent Technologies; Böblingen, Deutschland	Massenspektrometrie (polare Oberphase)

Fortsetzung Tabelle 6: Verbrauchsmaterialien.

Material	Firma; Firmensitz	Methode
Luna Omega 3µm Sugar (Säule)	Phenomenex Ltd.; Aschaffenburg, Deutschland	Massenspektrometrie (Nukleoside Monophosphate)
Mikroeinsatz	GC-Chromatographie Service GmbH; Langerwehe, Deutschland	Extraktion
Pipettenspitzen	Sarstedt; Nümbrecht, Deutschland	Extraktion
Verex™ Certified Vials 2ml Glass Amber	Phenomenex Ltd.; Aschaffenburg, Deutschland	Massenspektrometrie
Zorbax RRHD SB-Aq (Säule)	Agilent Technologies; Böblingen, Deutschland	Massenspektrometrie (Nukleobasen&Nukleoside)

2.1.4 Software

Tabelle 7: Software

Software	Firma; Firmensitz	Methode
Endnote 20	Clarivate Analytics; Philadelphia, USA	Zitierprogramm
Microsoft® Excel®	Microsoft Corporation; Redmont, USA	
Microsoft® Word®		
JMP®	SAS Analytics; North Carolina, USA	Statistische Auswertung
Xcalibur 4.3 (2019)	Thermo Fisher Scientific GmbH; Dreieich, Deutschland	Integration
TSQ Quantum 2.7	Thermo Fisher Scientific GmbH; Dreieich, Deutschland	Programmierung des Massenspektrometers

2.2 Methoden

2.2.1 *Studiendesign und -ablauf*

Diese Dissertationsschrift wurde im Rahmen der „Beobachtungsstudie zur Versorgung Früh- und Reifgeborener mit ausgewählten Mikronährstoffen“ verfasst. Durchgeführt wurde die prospektive Studie in der Abteilung Neonatologie der Universitätskinderklinik Tübingen.

Es wurden sowohl Blut- als auch Muttermilchproben von Früh- und Reifgeborenen und deren Müttern gesammelt.

Die Blutproben wurden jeweils postnatal aus der Nabelschnur (NS), der Mutter (48h) und dem Kind (Tag 3 +/-1d) entnommen. Zudem wurde bei stationär behandelten FG an Tag 14 (+/- 2d) postnatal und zum Zeitpunkt der rechnerisch 36 SSW (+/- 3d) eine Blutprobe entnommen. Das Nabelschnurblut wurde unmittelbar postnatal asserviert, wie alle anderen Proben nach max. 2 Stunden abzentrifugiert, und, aufgetrennt in Plasma und zelluläre Bestandteile (Erythrozytenpellets), eingefroren.

Diese Dissertation untersuchte die Konzentration ausgewählter Nukleotide und Nukleoside in den gewonnenen Blutproben mit Ausnahme der Blutproben der FG zum Zeitpunkt der rechnerisch 36 SSW.

Die klinischen Daten wurden anhand der im Anhang beigefügten Fragebögen und klinikinterner Datenverarbeitungsprogramme erhoben.

2.2.2 *Zustimmende Bewertung der Ethik-Kommission*

Am 17.06.2020 genehmigte die Ethik-Kommission der medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität Tübingen und am Universitätsklinikum Tübingen die eingereichte dritte Version des Ethikantrags zur „Beobachtungsstudie zur Versorgung Reif- und Frühgeborener mit ausgewählten Mikronährstoffen“. Diese wird unter der Projektnummer 007/2017/BO1 geführt.

2.2.3 *Probanden*

Zur Studie eingeschlossen wurden Reif- und Frühgeborene, die in der Universitätsfrauenklinik Tübingen im Zeitraum von 04.10.2020 bis 23.11.2022

geboren wurden. Dabei wurde die Studienpopulation auf FG ab der 23 + 0/7 SSW bis zu Reifgeborenen in der 42 + 0/7 SSW begrenzt. Anhand des entsprechenden postmenstruellen Alters bei Geburt wurden die Kinder in fünf Gestationsaltersklassen, entsprechend der fünf Studiengruppen, eingeteilt.

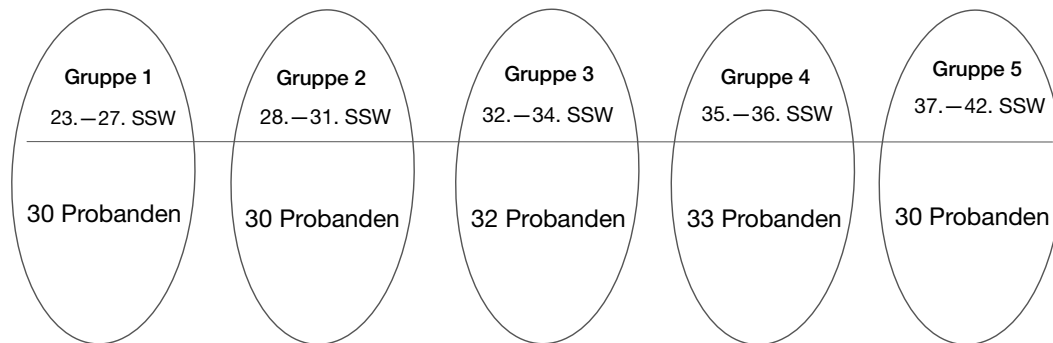


Abbildung 4: Einteilung der Studienpopulation nach SSW.
Abkürzungen: SSW = Schwangerschaftswoche

Eine Orientierung für eine Poweranalyse war aufgrund fehlender vorbestehender Datenlage zu Nukleotidkonzentrationen in Blutproben bei FG nicht möglich.

In der Universitätsfrauenklinik Tübingen werden jährlich ca. 110 Kinder mit einem Gestationsalter < 32 Wochen geboren. Bei einer Zustimmungsrate von 50%, war vor Beginn der Studie davon auszugehen jeweils ca. 30 Blutproben für die klinisch bedeutsamen Altersklassen innerhalb eines Jahres gewinnen zu können.

Ausgehend von normalverteilten Daten ließen sich zwischen den Gruppen Konzentrationsunterschiede in einer Größenordnung von 0,75-1,0 Standardabweichungen mit einem Alpha von 0,05 und einer Power von 80% bei zweiseitigem Testen nachweisen.

2.2.3.1 Einschlusskriterien

- Reif- und Frühgeborene Kinder, geboren zwischen der 23 + 0/7 und 42 + 0/7 SSW

2.2.3.2 Ausschlusskriterien

- Fehlende Einverständniserklärung der Mutter und/oder des/der Sorgeberechtigten
- Stoffwechselerkrankungen, Fehlbildungen oder syndromale Erkrankungen des Kindes

2.2.4 Rekrutierung

In den ersten Tagen nach der Geburt erfolgte eine mündliche und schriftliche Aufklärung durch eine Ärztin bzw. einen Arzt oder durch eine medizinisch geschulte Doktorandin bzw. Doktorand. Der hierfür benutzte Aufklärungs- (7.1) und Einverständnisbogen (7.2) ist im Anhang beigefügt.

2.2.5 Datenerhebung

Klinisch relevante Daten zur Mutter wurden durch einen Mutter-Fragebogen (7.3) gewonnen. Weitere klinisch relevante Daten für die Studie wurden durch folgende Patientendatenmanagementsysteme ermittelt:

- Intelspace Critical Care and Anesthesia (ICCA)
- Neonatologisches Patientendatenbanksystem (NEODAT)
- Medipaed

Folgende Parameter wurden während des stationären Aufenthalts anhand von Datenerfassungsbögen (Anhang 7.4. – 7.6.) erfasst:

- | | |
|------------------------|--|
| 1. Allgemeine Daten: | <ul style="list-style-type: none">○ Gestationsalter bei Geburt○ Geburtsdatum/-uhrzeit○ Geburtsmodus○ APGAR-Score○ Nabelarterien pH○ Geburtsmaße (GG, Länge, KU)○ Ursachen der Frühgeburtlichkeit○ Mehrlingsschwangerschaft (Chorialiät)○ Fetofetales Transfusionssyndrom (Donor oder Akzeptor)○ Pränatale Therapie mit Steroiden zur Lungenreifeinduktion |
| 2. Angaben zur Mutter: | <ul style="list-style-type: none">○ Alter○ Vorerkrankungen, ggf. Medikation○ Gestationsdiabetes (diätetisch, Medikation - Insulin)○ Nikotinabusus in Schwangerschaft/Stillzeit○ Angaben zur Ernährung in der Schwangerschaft und Stillzeit (Essgewohnheiten, Ernährungssupplementierung in der Schwangerschaft und/oder Stillzeit) |

- 3. Angaben zum Kind:
 - Stoffwechselscreening
 - Anus praeter (Datum Anlage/Rückverlagerung)
 - Entlassmaße (Gewicht, Länge, KU)
 - Entlassdatum
- 4. Angaben zu Laborwerten:
 - Nabelschnurblut
 - Mütterliches Blut (max. 48h nach Entbindung)
 - Kind Blutentnahme (BE) 1 (72h +/- 24h postnatal)
 - Kind BE 2 (14d +/- 48h postnatal)
 - Jeweils Datum/Uhrzeit Entnahme/Tiefkühlung

2.2.6 Probengewinnung und Probenlagerung

Die BE aus der Nabelschnur erfolgte unmittelbar postnatal aus der Nabelvene der Plazenta. Der Zeitpunkt der ersten BE beim Kind lag bei max. 72 Stunden postnatal, bei der Mutter bei max. 48 Stunden nach Entbindung. Bei stationär versorgten Kindern erfolgte dann eine weitere BE 14 Tage nach der Geburt. Alle Blutentnahmen des Kindes erfolgten zusammen mit klinisch indizierten Blutentnahmen zur Therapiesteuerung, so dass kein zusätzlicher Nadelstich aufgrund der Studie nötig war. Alle Blutproben wurden venös in einem EDTA-Röhrchen gewonnen. Nach Pseudonymisierung wurden die Proben innerhalb von zwei Stunden bei 3000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten zentrifugiert und in Plasma und Erythrozytenpellets aufgetrennt. Es ergaben sich jeweils zwischen 50 bis 100µl Plasma, welches in Eppendorfcups im Gefrierfach bei -40 °C auf der neonatologischen Intensivstation gelagert wurden. Innerhalb weniger Wochen wurden die Proben gefroren in ein -80 °C-Gefrierfach überführt oder zur Auswertung aufgearbeitet.

2.2.7 Aufarbeitung der Blutproben

2.2.7.1 Herstellung der Standardlösung

Die Stammlösung des Nukleotidstandards setzte sich aus 4 Standard-Ausgangslösungen (siehe Tabelle 4) mit je 5mM zusammen. Um ein äquimolares Gemisch mit je 1mM herzustellen, wurde zuerst von jeder Ausgangslösung 100µl in 100µl reinem H₂O gelöst. Bei dem in dieser Studie verwendeten H₂O handelt es sich um Aqua bidestillata. Dieser Lösung wurde zur weiteren Verdünnung 4500µl H₂O zugefügt, wodurch eine 100µM Standard-Stammlösung entstanden ist. Vor jeder Probenaufbereitung wurden von der Stammlösung entsprechende

Volumina abpipettiert und mit H₂O verdünnt, um eine Endverdünnung zur Standard-Gebrauchslösung von 4µM zu erzielen.

2.2.7.2 Durchführung der Extraktion und Extraktaufbewahrung

Alle zur Extraktion verwendeten Gefäße sind aus Glas und wurden mit Methanol vorgereinigt. Zu Beginn der Extraktion wurden 25µl der Standardlösung sowie 50µl des Proben-Plasmas in ein 10ml-Black-Cap-Röhrchen pipettiert und anschließend mit dem Vortex-Rüttler homogenisiert. Ergab sich bei den Plasmaproben der Kinder kein Gesamtzielvolumen von 50µl, wurde das Volumen bis zur Erreichung mit H₂O angereichert. Um ein ternäres Gemisch herzustellen, wurden der Probe daraufhin 75µl Methanol und das gleiche Volumen Chloroform hinzu pipettiert. Nach einer weiteren Homogenisierung wurde das Gemisch für 15 Minuten auf Eis inkubiert und anschließend erneut homogenisiert. Danach erfolgte zur Phasentrennung eine Zentrifugation (20 Minuten, 3000xg) bei Raumtemperatur. Die entstandene Oberphase mit den enthaltenen Nukleotiden und Nukleosiden wurde zur Messung mit einer Hamilton-Spritze in ein 2ml-Vial mit Mikroeinsatz transferiert und bis zur Analyse bei -80°C im Gefrierfach aufbewahrt. Die entstandene Lipid-Unterphase wurde verworfen.

Tabelle 8: Standardherstellungs- und Extraktionsschritte.
Abkürzungen: M = Molar, min = Minuten

Schritt	Verfahren	Molare Masse
Herstellung der Standardlösung		
1.	Je 100µl der vier Ausgangslösungen (je 5mM) - Cytosin-1,4-13C2, 15N3 - Adenin-1,3-15N2 - Adenosin-15N5,5-monophosphat - Uridin-5,6-d2 + 100µl H ₂ O	→ 1mM äquimolares Gemisch
2.	+ 4500µl H ₂ O	→ 100µM Standard-Stammlösung
3.	400µl der Standard-Stammlösung + 9600µl H ₂ O	→ 4µM Standard-Gebrauchslösung
Extraktion		
4.	25µl Standard-Gebrauchslösung + 50µl Proben-Plasma	
5.	Vortexen	
6.	+ 75µl Methanol + 75µl Chloroform	
7.	Vortexen	
8.	15 min auf Eis inkubieren	
9.	Vortexen	
10.	Zentrifugieren (3000xg, 20min)	
11.	Oberphase in 4ml Vial mit Mikroeinsatz überführen	

2.2.8 Massenspektrometrische Analyse

Die Plasmaextrakte wurden mittels Tandemmassenspektrometrie untersucht. Anhand ihrer Masse können mittels Massenspektrometrie geladene, ionisierbare Moleküle einer verdampfbaren Lösung quantifiziert werden. Einfach protoniert besitzen sie eine definierte Masse/Ladung (m/z), die um 1 Dalton (Da) höher ist als die des Ausgangsmoleküls. Dies macht die Bestimmung der Konzentrationen dieser Stoffe und folglich die Zusammensetzung der Proben, oder wie hier der Plasmaextrakte möglich. Konzentrationen wurden über die m/z spezifischen Total Ion Counts (TICs), im Verhältnis zu denen des internen Standards und der externen Eichkurven (siehe 2.2.9.2), bestimmt (Bernhard et al., 2015). Alle Purin- und Pyrimidinbasen, sowie alle in dieser Studie gemessenen Nukleoside wurden mittels Zorbax-Methode innerhalb einer Detektionszeit von 18 Minuten durch eine feinere Säule mit einem Porengrößen-Durchmesser von $1,8\mu\text{m}$ bestimmt. Die Nukleotidmonophosphate wurden mittels Luna-Methode bei einer Porengröße der MS-Säule von $3\mu\text{m}$ und einer Detektionszeit von 12 Minuten gemessen. Tabelle 9 stellt alle in dieser Studie gemessenen Zielsubstrate dar.

Tabelle 9: Zielsubstrate

Pyrimidinbase	Nukleosid (Base + Pentose)	Nukleotidmonophosphat (Base + Pentose + Phosphat)
Cytosin	Cytidin	CMP
Thymin	Thymidin	TMP
Uracil	Uridin	UMP
Purinbase	Nukleosid	Nukleotidmonophosphat
Adenin	Adenosin	AMP
Guanin	Guanosin	GMP
Hypoxanthin	Inosin	IMP
Xanthin		

2.2.8.1 Allgemeiner Aufbau

Dem MS ist ein Flüssigchromatograph vorgeschaltet. In ihm erfolgte die Auftrennung der Stoffe aufgrund ihrer Löslichkeit und Polarität. Im MS sind ein Einlasser, eine Ionenquelle, ein Analysator und ein Detektor in Reihe geschaltet. Als Ionenquelle wurde bei dieser Studie die Elektrospray-Ionisation (ESI) genutzt.

Durch die Ionisierung werden die Teilchen durch die resultierende Abstoßung zu einem Gas, das durch eine Transferkapillare in das vorliegende Hochvakuum in den Triple-Quadrupol-Analysator ($10^{-3} - 10^{-7}$) gesogen wird. Dieser besitzt jeweils vier parallel liegende Stabelektroden. Durch einen Wechsel der Gleichspannung werden die zu messenden Teilchen im Analysator proportional zum jeweiligen m/z -Wert abgelenkt und treffen schließlich auf einen Detektor mit integriertem Messverstärker, welcher den Ionenstrom misst. In Summe handelt es sich folglich um einen Flüssigchromatographie-gekoppelten Triplequadrupol-Tandem-MS mit Elektrosprayionisations-Interface (LC-ESI-MS/MS).

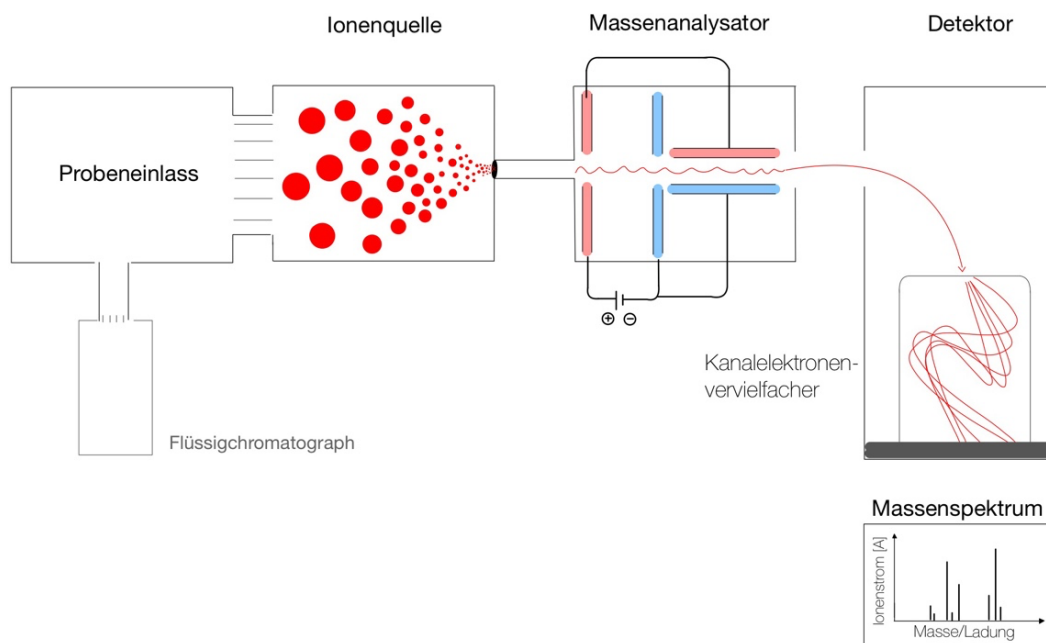


Abbildung 5: Schematischer Aufbau eines Massenspektrometers

2.2.8.2 Eichkurven

Zur Berechnung der Konzentration der einzelnen Substrate wurde, wie zuvor geschildert, ein Verhältnis zu extern ermittelten Eichkurven und dem internen Standard hergestellt.

Die für diese Studie erstellten Eichkurven sind im Anhang (7.1) abgebildet. Dabei gibt die numerische Bezeichnung der Zielsubstanz die spezifische m/z des diagnostischen Fragments an.

2.2.9 Statistische Auswertung

Statistisch ausgewertet wurden die Ergebnisse dieser Arbeit mit dem Statistikprogramm JMP 16.2.0 (SAS-Institute; North Carolina, USA). Die zugehörigen Diagramme wurden mit dem Programm Microsoft® Excel® erstellt.

Zu Beginn jeder Auswertung wurde die Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Test geprüft. Des Weiteren wurden das Histogramm sowie der Box-Plot ausgewertet.

Waren die Daten nicht normalverteilt, wurde der Median, sowie 25. und 75 Quantile abgebildet und die Rangkorrelationsanalyse nach Spearman ausgewertet, woraus sich das Signifikanzniveau nach Spearman (ρ) ergab.

Um zu prüfen, ob sich die Werte innerhalb der erstellten Studiengruppen sowie innerhalb der unterschiedlichen Probandengruppen unterscheiden, wurden diese mittels Kruskal-Wallis-Test gegeneinander geprüft. Die Ergebnisse davon wurden als Chi-Quadrat-Test zur Berechnung des p-Werts herangezogen. Insofern der Kruskal-Wallis-Test signifikante Ergebnisse lieferte, wurden Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Test) durchgeführt. Wurden zwei abhängige Variablen analysiert, wie die erste und zweite BE der Kinder, wurden diese weiter mittels Wilcoxon-Tests geprüft.

Als statistisch signifikant wurde $p < 0,05$ festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Auswertung

3.1.1 Studienpopulation

In der Universitätsfrauenklinik Tübingen wurden im Zeitraum der Studie (04.10.2020 - 23.11.2022) 7566 Geburten verzeichnet. Davon konnten 222 Eltern, deren Kinder die Einschlusskriterien erfüllten, zur Studie aufgeklärt werden. Hiervon erklärten 156 sich zur Teilnahme einverstanden. Dies ergibt eine Zustimmungsrate von 70,27%.

Aufgrund organischer Fehlbildungen wurde ein Proband rückwirkend von der Studie ausgeschlossen. Insgesamt wurden in dieser Studie folglich 155 Probanden eingeschlossen.

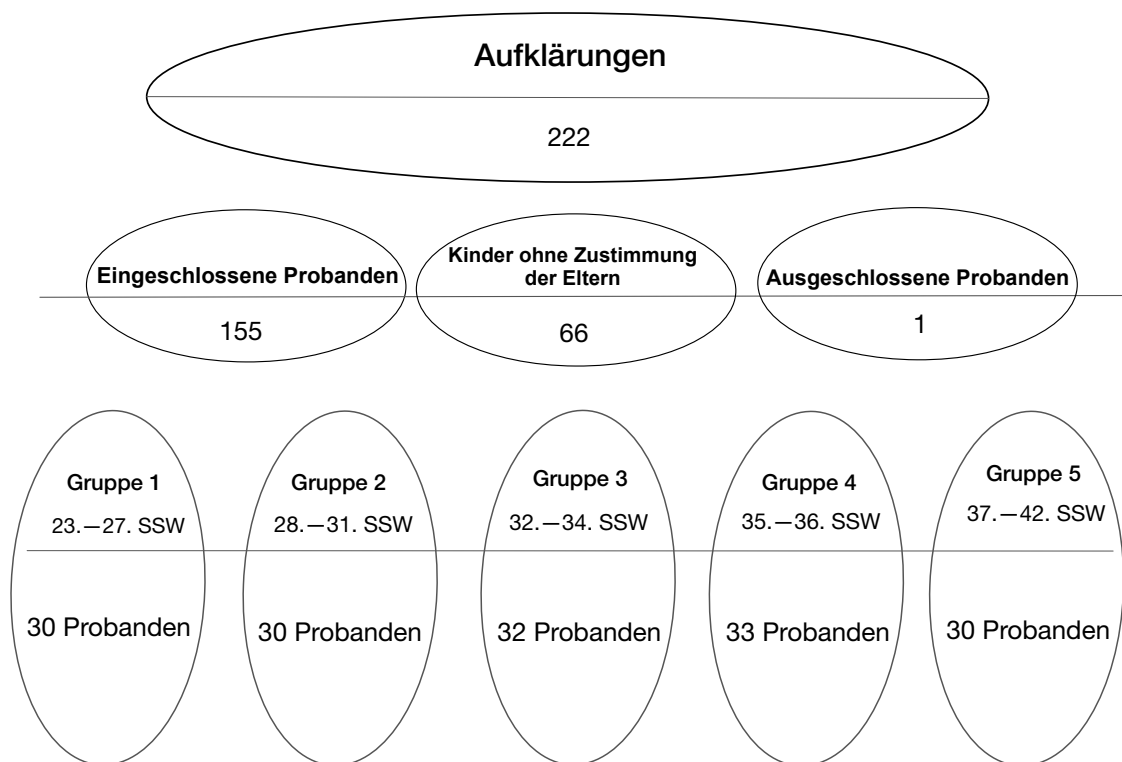


Abbildung 6: Aufbau der Studienpopulation

Damit ergab sich für alle Studiengruppen ein prozentualer Anteil an der Gesamtpopulation von 19% (30 Probanden) bis 21% (32/33 Probanden). Studiengruppe 5 entsprach den Reifgeborenen.

Alle Proben (N=5), die in einem Zeitraum von 120 Minuten nicht asserviert werden konnten, wurden nicht ausgewertet, ebenso BE, die nicht innerhalb des festgelegten Zeitrahmens (siehe 2.2.1) stattfinden konnten. Der Hauptgrund für nicht durchgeführte BE waren intensivstationäre Aufenthalte, Operationen oder Behandlungen sowohl der Mütter, aber auch der Kinder, außerhalb der neonatologischen Intensivstation oder der Universitätsfrauenklinik.

Unter Anwendung aller genannter Parameter, wurden 150 Nabelschnur-Plasmaproben, 150 Plasmaproben der ersten BE bei den Kindern, 122 Blutproben der Mütter, sowie 70 Blutproben der Kinder nach 14 Tagen stationären Aufenthalts ausgewertet. Von allen Proben mussten 33 mit H₂O verdünnt werden, um das Zielvolumen zu erreichen, und 72 Plasmaproben waren ersichtlich hämolytisch. Tabelle 10 zeigt die genaue Probenanzahl (N) pro Studiengruppe und Probenkategorie.

Tabelle 10: Probenquantität nach Studiengruppe und Probenkategorie.
Abkürzungen: INSG. = insgesamt, N = Anzahl

Probe	Studiengruppe					INSG.
	1 23. – 27. SSW	2 28. – 31. SSW	3 32. – 34. SSW	4 35. – 36. SSW	5 37. – 42. SSW	
	N	N	N	N	N	
Mutter	21	25	24	25	27	122
Nabelschnur	29	29	31	32	29	150
Kind BE	28	30	32	31	29	150
Kind BE2	24	27	15	4	0	70
INSGESAMT	99	110	102	91	85	

3.1.1.1 Charakterisierung Kinder

Zur Studie wurden 89 männliche und 66 weibliche Probanden eingeschlossen. Innerhalb der Studiengruppen 2, 3 und 5 war die Geschlechterverteilung zugunsten der männlichen Probanden ungleich verteilt. Insgesamt ergab sich mit 57% männlichen und 43% weiblichen Probanden jedoch eine ausreichend ausgeglichene Geschlechterverteilung. Tabelle 11 zeigt diese in Abhängigkeit der Studiengruppen.

Tabelle 11: Geschlechtsverteilung innerhalb der Studiengruppen.

Abkürzungen: % = Prozent an Studiengruppe, %Ges. = Prozentualer Anteil an jeweiliger Studiengruppe, ♀ = weiblich, ♂ = männlich, INSG. = insgesamt, N = Absolute Anzahl, SSW = Schwangerschaftswochen

Geschlecht	Studiengruppe											
	1 23. – 27. SSW		2 28. – 31. SSW		3 32. – 34. SSW		4 35. – 36. SSW		5 37. – 42. SSW		INSG.	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%Ges.
♂	14	45,7	23	76,7	20	62,5	14	42,4	18	60,0	89	57,4
♀	16	53,3	7	23,3	12	37,5	19	57,6	12	40,0	66	42,6

Die Gewichtsverteilung innerhalb der einzelnen Studiengruppen war normalverteilt. Das Maximale Geburtsgewicht lag bei 4530 g, das niedrigste Geburtsgewicht bei 340 g. Bezogen auf die Gesamtpopulation lag der Median bei 1970 g. In Abhängigkeit der Studiengruppen nach Gestationsalter bei Geburt, ergaben sich die in Tabelle 12 angegebenen Gewichtsverteilungen.

Tabelle 12: Gewichtsverteilung innerhalb der Studiengruppen.

Abkürzungen: Arithm.Mittel = Arithmetisches Mittel, INSG. = insgesamt, SD = Standardabweichung, SSW = Schwangerschaftswochen,

Gewicht [g]	Studiengruppe					
	1 23. – 27. SSW	2 28. – 31. SSW	3 32. – 34. SSW	4 35. – 36. SSW	5 37. – 42. SSW	INSG.
Median	780	1435	2070	2470	3385	1970
Minimum	340	700	1435	1540	1900	340
Maximum	1115	2530	3360	3655	4530	4530
Arithm.Mittel	761	1390	2094	2493	3328	2024
SD	182	404	465	456	664	987

Kinder, deren Geburtsgewicht in Bezug auf das Gestationsalter unter der 10. Perzentile liegt, bezeichnet man als „small for gestational age“ (SGA). Zur

Klassifikation wurden in dieser Studie die Fenton-Wachstumskurven (Fenton & Kim, 2013) für früh- und neugeborene Mädchen und Jungen verwendet. Orientierend an diesen Wachstumskurven waren in dieser Studie 36 Probanden SGA. Tabelle 13 zeigt die Anzahl SGA-Kinder innerhalb der einzelnen Studiengruppen.

Tabelle 13: Anzahl SGA-Kinder innerhalb der Studiengruppen.

Abkürzungen: % = Prozentualer Anteil an jeweiliger Studiengruppe, %Ges. = Prozentualer Anteil an Gesamtpopulation, INSG. = insgesamt, N = Absolute Anzahl, SGA = *small for gestational age*, SSW = Schwangerschaftswoche,

	Studiengruppe										INSG.	
	1 23. – 27. SSW		2 28. – 31. SSW		3 32. – 34. SSW		4 35. – 36. SSW		5 37. – 42. SSW			
SGA	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%Ges.
Ja	10	33,3	7	23,3	6	18,8	6	18,2	7	23,3	36	23,3
Nein	20	66,7	23	76,7	26	81,3	27	81,8	23	76,7	119	76,8

In allen Studiengruppen konnte ein erhöhter Anteil (35%) an Mehrlingskindern beobachtet werden. Insgesamt waren unter den Probanden 54 Mehrlinge, davon 42 Zwillinge und 12 Drillinge. Von den 54 Mehrlingsschwangerschaften war die Chorialität von 10 Probanden monochorial-monoamniot, von 13 Probanden monochorial-diamniot und von 32 dichorial-diamniot. Bei zwei Zwillingspaaren (4 Probanden) lag ein feto-fetales Transfusions-Syndrom vor. Die genaue Anzahl Mehrlinge innerhalb der Studiengruppen zeigt Tabelle 14. Die Plasmakonzentrationen ausgewählter Nukleotide/-side in den Blutproben der Mehrlinge unterschied sich weder in den zugehörigen Nabelschnurproben und mütterlichen Plasmaproben, noch in den Proben der Kinder signifikant von den ermittelten Plasmakonzentrationen im Blut bei Einlingen bzw deren Müttern.

Tabelle 14: Anzahl Mehrlinge innerhalb der Studiengruppen.

Abkürzungen: N = Absolute Anzahl, % = Prozentualer Anteil an jeweiliger Studiengruppe, % Ges. = Prozentualer Anteil an Gesamtpopulation, INSG. = insgesamt

Mehrlinge	Studiengruppe											
	1		2		3		4		5		INSG.	
	23. – 27. SSW		28. – 31. SSW		32. – 34. SSW		35. – 36. SSW		37. – 42. SSW			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%Ges.
Ja	13	43,3	7	23,3	17	53,1	13	53,1	4	13,3	54	34,8
Nein	17	56,7	23	76,7	15	46,9	20	60,6	26	86,7	119	76,8

Bis auf drei Probanden hatten alle FG von der 23. bis zur 31. SSW eine pränatale Kortikosteroid-Therapie zur Lungenreifeinduktion erhalten. Auf die Gesamtpopulation gesehen hatten mehr als die Hälfte (52,90%) aller Studienprobanden eine Lungenreifetherapie erhalten. Die Anzahl erhaltener Therapien nahm, wie in Tabelle 15 ersichtlich, mit steigendem Gestationsalter ab.

Tabelle 15: Pränatale Kortikosteroid-Therapie innerhalb der Studiengruppen.

Abkürzungen: INSG. = insgesamt, N = Absolute Anzahl, Pränat. Stero. = Pränatale Steroide, % = Prozentualer Anteil an jeweiliger Studiengruppe, % Ges. = Prozentualer Anteil an Gesamtpopulation

Steroidtherapie	Studiengruppe											
	1		2		3		4		5		INSG.	
	23. – 27. SSW		28. – 31. SSW		32. – 34. SSW		35. – 36. SSW		37. – 42. SSW			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%Ges.
Ja	29	96,7	28	93,3	13	40,6	12	63,4	0	0,0	82	52,90
Nein	1	3,3	2	6,7	19	59,4	21	63,6	30	100,0	73	47,10

3.1.1.2 Charakterisierung Mütter

Das Alter der Mütter in der Gesamtpopulation sowie innerhalb der einzelnen Studiengruppen war normalverteilt (Tabelle 16). Die jüngsten Mütter (N=2), die an der Studie teilnahmen, waren zum Zeitpunkt der Geburt 21 Jahre alt. Die

Älteste hatte ein Alter von 42 Jahren. Das arithmetische Mittel des Alters aller an der Studie teilnehmenden Mütter lag bei 32,63 Jahren mit einer Standardabweichung (SD) von 4,64 Jahren.

Tabelle 16: Altersverteilung der Mütter innerhalb der Studiengruppen.
Abkürzungen: Arith. Mittel = Arithmetisches Mittel, INSG. = insgesamt, SD = Standardabweichung, SSW = Schwangerschaftswoche

		Studiengruppe					INSG.
		1 23. – 27.SSW	2 28. – 31.SSW	3 32. – 34.SSW	4 35. – 36.SSW	5 37. – 42.SSW	
Alter [Jahren]	Minimum	21	25	25	26	21	21
	Maximum	42	40	42	40	38	42
	Arith.Mittel	32,63	31,74	34,61	34,00	31,55	32,73
	SD	4,64	3,36	5,12	3,85	4,61	4,58

Bei 125 Probanden handelte es sich um Frühgeborene. Der häufigste Grund, der hier zur vorzeitigen Entbindung führte, war die unhemmbare Wehentätigkeit. Unter „Sonstige“ wurden Ursachen wie maternale Grunderkrankungen, Vaginale Blutung, und vollständige Muttermundseröffnung zusammengefasst. Doppelnennungen waren möglich. Die einzelnen Häufigkeiten der Ursachen, die zur Frühgeburt führten, sind in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: Ursachen der Frühgeburtlichkeit innerhalb der Studiengruppen.
Abkürzungen: CTG = Cardiotokogramm, HELLP = *Haemolysis Elevated Liver Enzyme Levels Low Platelet Count*, INSG. = insgesamt, N = Absolute Anzahl

Ursache Frühgeburtlichkeit		Studiengruppen				INSG.
		1	2	3	4	
		N	N	N	N	N
Hypertone Schwanger- schaftserkran- kungen	Pathologisches CTG	8	7	4	1	20
	HELLP-Syndrom	1	1	2	1	5
	Präeklampsie	1	3	3	5	12
	Wachstumsretardierung/ Pathologischer Doppler	2	5	2	0	9

Fortsetzung Tabelle 17: Ursachen der Frühgeburtlichkeit innerhalb der Studiengruppen.
 Abkürzungen: AIS = Amnioninfektionssyndrom, CTG = Cardiotokogramm, HELLP = *Haemolysis Elevated Liver Enzyme Levels Low Platelet Count*, INSG. = insgesamt, N = Absolute Anzahl,

Ursache Frühgeburtlichkeit		Studiengruppen				
		1	2	3	4	INSG.
		N	N	N	N	N
Infektion	Unhemmbare Wehentätigkeit	18	10	13	13	54
	(V.a.) AIS	2	5	1	2	10
Andere	Sonstiges	1	4	13	13	31
Unklar	Keine Angaben	2	1	0	0	3

Innerhalb aller Studiengruppen zeigte sich mit insgesamt 80,7 % ein hoher Anteil an primären sowie sekundären Sectiones. Dieser war in Studiengruppe 2 am höchsten. In allen anderen Studiengruppen war der Anteil beinahe gleich hoch und zeigte keine Tendenz. Da es besser planbar sowie durchführbar war das NS-Blut nach einer operativen Entbindung zu gewinnen war die Rate dieser hier überrepräsentativ hoch. Die genaue Häufigkeit der Geburtsmodi innerhalb der Studiengruppen ist in Tabelle 18 dargestellt.

Tabelle 18: Geburtsmodi innerhalb der Studiengruppen.
 Abkürzungen: % = Prozent an Studiengruppe, % Ges. = Prozent an Gesamtpopulation, INSG. = insgesamt, N = Absolute Anzahl, Prim.Sectio = Primäre Sectio, Sek. Sectio = Sekundäre Sectio, Spont. Geb. = Spontane vaginale Geburt, Vag. Op. = Vaginal operative Entbindung,

Geburtsmodus	Studiengruppe											
	1		2		3		4		5		INSG.	
	23. – 27. SSW		28. – 31. SSW		32. – 34. SSW		35. – 36. SSW		37. – 42. SSW			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%Ges.
Spont. Geb.	3	10,0	6	20,0	6	18,8	9	27,3	5	16,7	29	18,7
Vag. Op.	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	3,3	1	0,7
Prim. Sectio	8	26,7	15	50,0	13	40,6	11	33,3	13	43,3	60	38,7
Sek. Sectio	19	63,3	9	30,0	13	40,6	13	39,4	11	36,7	65	41,9

3.2 Konzentration ausgewählter Mikronährstoffe

3.2.1 *Nabelschnurplasmaproben*

3.2.1.1 *Pyrimidine – Plasmakonzentration im NS-Blut*

Die Konzentrationen der einzelnen Pyrimidinbasen Cytosin, Thymin, Uracil sowie der Nucleoside Cytidin, Thymidin, Uridin, und Nucleotide CMP, TMP, UMP, innerhalb der insgesamt 150 Nabelschnurplasmaproben aller Studiengruppen waren nicht normalverteilt.

Die ermittelten Cytidin-Konzentrationen lagen zu 82 % über der Nachweisgrenze (NWG). Der höchste Median wurde in der Studiengruppe 1 mit $0,86\mu\text{mol/L}$ detektiert. Die niedrigsten Konzentrationen mit einem Median von $0,05\mu\text{mol/L}$ finden sich bei den Reifgeborenen in Studiengruppe 5. Dieser ermittelte Konzentrationsunterschied zwischen den beiden Gruppen war statistisch signifikant ($p < 0,0001$).

Alle Nabelschnurplasmaproben, die auf das Pyrimidinderivat Uridin hin untersucht wurden, wiesen MW oberhalb der NWG auf. Auch hier wurde der höchste Median mit $5,98\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 1 der extrem FG, der niedrigste mit $3,44\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 5 der Reifgeborenen, detektiert. Die beiden Gruppen unterschieden sich signifikant ($p < 0,0001$) voneinander.

Die genauen Messergebnisse aller Pyrimidine sind Tabelle 19 zu entnehmen.

3.2.1.2 *Purine – Plasmakonzentration im NS-Blut*

Die gemessenen Konzentrationen der Purinbasen Adenin, Guanin, Hypoxanthin und Xanthin, der Nucleoside Adenosin, Guanosin, Inosin sowie der Nucleotide AMP, GMP und IMP waren nicht normalverteilt.

Die Hypoxanthin-Konzentrationen lagen alle (100%), die der Purinbase Xanthin zu 81% über der NWG. Der Median der Hypoxanthin-Konzentrationen lag zwischen $8,85\mu\text{mol/L}$ in Studiengruppe 5 der Reifgeborenen und $17,70\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 1 der extremen FG. Der höchste Xanthin-Median wurde in Studiengruppe 2 ($0,54\mu\text{mol/L}$) ermittelt. Für die anderen Studiengruppen ergab sich kein signifikanter Konzentrationsunterschied zur Referenz der reifen NG.

Die ermittelten Inosin-Konzentrationen lagen zu 87% über der NWG. Die höchsten Konzentrationen des Purinderivats wurden in Studiengruppe 1 (0,67µmol/L) ermittelt und unterschieden sich damit signifikant ($p < 0,0001$) von den niedrigsten hier ermittelten NS-Konzentrationen in Studiengruppe 5 (0,12µmol/L).

Bezugnehmend auf das Nukleotid AMP konnten bei allen Nabelschnurproben MW über der NWG ermittelt werden. Der höchste Median von 0,59µmol/L wurde in Studiengruppe 1 ermittelt. Dagegen wurden die niedrigsten Konzentrationen mit einem Median von 0,26µmol/L in Studiengruppe 3 gemessen ($p = 0,0062$). Ebenso bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Studiengruppe 1 und der Studiengruppe 5 (0,33 µmol/L) der Reifgeborenen ($p = 0,0266$).

3.2.1.3 Zusammenfassung – Konzentrationen ausgewählter Purine und Pyrimidine in den NS-Plasmaproben

Zusammenfassend wurde im Nabelschnurblut in dieser Studie für (1) Cytidin, (2) Uridin, (3) CMP, (4) Hypoxanthin, (5) Xanthin, (6) Inosin, (7) AMP und (8) GMP in mindestens einer Studiengruppe ein Median über der jeweiligen NWG ermittelt. Dabei war der Mikronährstoff mit der höchsten ermittelten medianen Konzentration Hypoxanthin gefolgt von Uridin, Xanthin, AMP und Inosin (entsprechen abfallender Konzentration gelistet).

Im NS-Plasma dieser Studie ließen sich 11 Mikronährstoffe (Cytosin, Thymin, Uracil, TMP, UMP, Adenin, Guanin, Adenosin, Guanosin, GMP, IMP) in keiner Plasmaprobe nachweisen.

Einen Überblick der ermittelten Quantile der gemessenen Mikronährstoffe gibt Abbildung 7 A&B.

Tabelle 19 stellt die in den Plasmaproben der NS ermittelten Konzentrationen der Purine und Pyrimide dar.

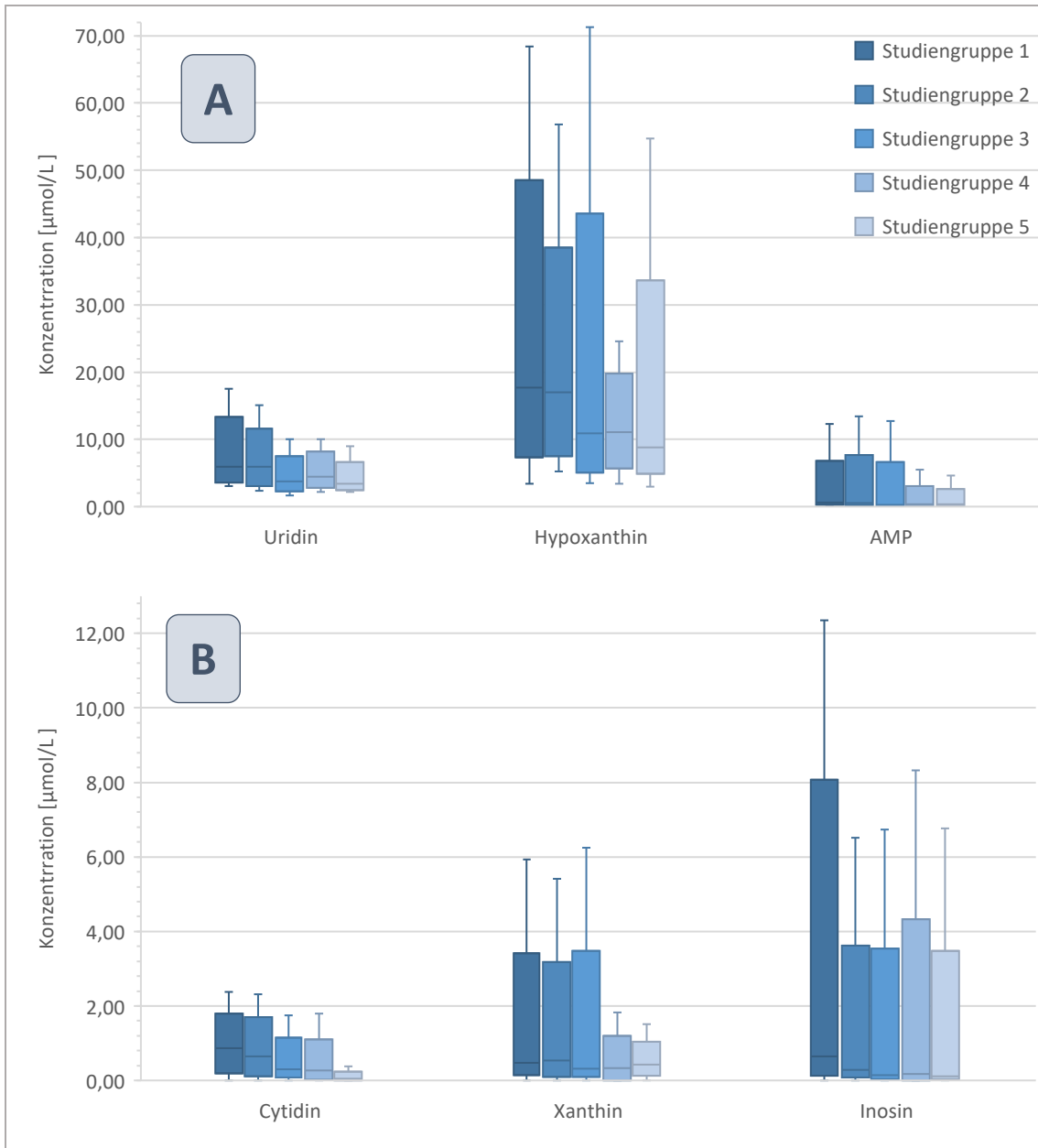


Abbildung 7 A&B: Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in $\mu\text{mol/L}$ in Nabelschnur-Plasmaproben.

Darstellung als Boxplots (Minimum, Maximum, erstes/drittes Quartil, Median) in Abhängigkeit der Studiengruppen.

Tabelle 19: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Nabelschnur

Abkürzungen: Konz. = Konzentration, Max. = Maximum, Med. = Median, Min. = Minimum, MW. = Messwerte, N = Absolute Anzahl, NS = Nabelschnur, NWG. = Nachweisgrenze, p25 = 25%-Quantile, p75 = 75%-Quantile

	NWG	MW < NWG.	MW > NWG.	Studiengruppen					INSG.			
				1	2	3	4	5	Konz. [µmol/L]			
	Konz. [µmol/L]	%	%	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.
Pyrimidinkonzentrationen [µmol/L]												
Cytosin	0,1	83	17	< NWG (0-0,56)	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG (0-0,17)	< NWG	<NWG	1,22
Thymin	1,0	95	5	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	3,27
Uracil	0,03	89	11	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	8,77
Pyrimidin-Nukleoside												
Cytidin	0,03	18	82	0,86 (0,37-1,21)	0,64 (0,21-1,09)	0,30 (0,16-0,55)	0,27 (0,05-0,41)	0,05 (0-0,11)	0,30 (0,06-0,76)	<NWG	<NWG	1,95
Thymidin	0,1	100	0	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	<NWG	<NWG
Uridin	0,01	0	100	5,98 (3,79-8,11)	5,93 (3,79-8,11)	3,74 (2,89-5,02)	4,49 (3,44-6,30)	3,44 (2,67-4,33)	4,35 (3,35-6,33)	1,70	13,34	
Pyrimidin-Nukleotide												
CMP	0,01	55	45	0,02 (0-0,22)	0,05 (0,01-0,14)	0,01 (0-0,04)	0,02 (0,01-0,05)	0,02 (0,01-0,16)	0,02 (0-0,07)	<NWG	<NWG	0,59
TMP	1,0	99	1	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	<NWG	<NWG
UMP	3,0	99	1	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	<NWG	<NWG

Tabelle 19 Fortsetzung: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Nabelschnur
 Abkürzungen: Konz. = Konzentration, Max. = Maximum, Med. = Median, Min. = Minimum, MW. = Messwerte, N = Absolute Anzahl, NS = Nabelschnur, NWG. = Nachweisgrenze, p25 = 25%-Quantile, p75 = 75%-Quantile

	NWG	MW < NWG.	MW > NWG.	Studiengruppen					INSG.			
	Konz. [µmol/L]	%	%	1	2	3	4	5	Konz. [µmol/L]			
				Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.	
Purinkonzentrationen [µmol/L]												
Adenin	0,03	98	2	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,06	
Guanin	0,03	79	21	< NWG (0-0,48)	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG (0-0,92)	< NWG	<NWG	1,13	
Hypoxanthin	0,1	0	100	17,70 (11,22-28,67)	17,04 (9,79-20,26)	10,87 (6,56-15,91)	11,07 (8,06-15,09)	8,85 (6,79-12,55)	12,20 (7,98-17,87)	2,99	57,77	
Xanthin	0,03	19	81	0,47 (0,28-0,91)	0,54 (0,19-0,94)	0,32 (0,19-0,71)	0,34 (0-0,58)	0,43 (0,27-0,57)	0,41 (0,20-0,70)	<NWG	4,36	
Purin-Nukleoside												
Adenosin	0,01	69	31	< NWG (0-0,04)	< NWG (0-0,03)	< NWG (0-0,01)	< NWG (0-0,02)	< NWG (0-0,01)	< NWG	<NWG	0,17	
Guanosin	0,01	69	31	< NWG (0-0,18)	< NWG (0-0,02)	< NWG	< NWG	< NWG (0-0,01)	< NWG	<NWG	1,20	
Inosin	0,01	13	87	0,64 (0,26-3,78)	0,28 (0,16-0,74)	0,14 (0,07-0,35)	0,17 (0-0,33)	0,12 (0,08-0,20)	0,21 (0,10-0,53)	<NWG	24,21	
Purin-Nukleotide												
AMP	0,01	0	100	0,59 (0,38-1,36)	0,50 (0,28-2,05)	0,26 (0,17-0,46)	0,36 (0,17-0,60)	0,33 (0,17-0,60)	0,38 (0,22-1,00)	0,07	10,13	
GMP	0,01	64	36	< NWG (0-0,06)	0,01 (0-0,17)	< NWG (0-0,03)	< NWG (0-0,04)	< NWG (0-0,08)	< NWG (0-0,07)	<NWG	1,43	
IMP	0,3	91	9	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	1,22	

3.2.2 Plasmaproben Mütter

3.2.2.1 Pyrimidine – Plasmakonzentration im mütterlichen Blut

Die 122 mütterlichen Proben aller Studiengruppen waren bezüglich der Pyrimidine und deren Derivate nicht normalverteilt.

Bei 49% der Plasmaproben wurden Cytidin-Konzentrationen über der NWG ermittelt. Dabei ergaben sich in allen Gruppen ähnliche mediane Werte zwischen $0,03\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 1 und $0,05\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 5.

Die Uridin-Konzentrationen der mütterlichen Plasmaproben lagen alle über der NWG (100%). Die höchsten Uridin-Konzentrationen wurden in Studiengruppe 1 (Median $3,30\mu\text{mol/L}$) gemessen. Der niedrigste Median ($2,04\mu\text{mol/L}$) wurde in Studiengruppe 4 ermittelt. Sowohl bezüglich der Cytidin- als auch der Uridin-Konzentrationen konnte kein statistisch signifikanter Unterschied ermittelt werden.

3.2.2.2 Purine – Plasmakonzentration im mütterlichen Blut

Die Konzentrationen der Purine waren nicht normalverteilt.

Die Purinbase Hypoxanthin wies in 79% der mütterlichen Plasmaproben MW über der NWG auf. Die Konzentrationen unterschieden sich signifikant ($p=0,0003$) im Median zwischen der Studiengruppe 2 ($1,53\mu\text{mol/L}$) und der Kontrollgruppe (5) der Reifgeborenen ($4,7\mu\text{mol/L}$).

39 % der ermittelten Xanthin-Konzentrationen lagen über der NWG. Der Median der Studiengruppe 2 ($0,09\mu\text{mol/L}$) und der Studiengruppe 5 ($0,18\mu\text{mol/L}$) unterschied sich am stärksten. Dieser Unterschied war signifikant ($p=0,0037$).

Bezugnehmend auf das Nukleomonophosphat AMP konnten bei 98% der Proben MW über der NWG ermittelt werden. Die ermittelten Mediane der AMP-Konzentration wiesen zwischen den Studiengruppen außer zwischen 3 und 5 ($p=0,0199$) keine signifikanten Unterschiede auf und lagen zwischen $0,14\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 3 und $0,25\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 5.

3.2.2.3 Zusammenfassung – Konzentrationen ausgewählter Purine und Pyrimidine in den mütterlichen Plasmaproben

Zusammenfassend wurde im Plasma der Mütter in dieser Studie für (1) Cytidin, (2) Uridin, (3) Hypoxanthin, (4) Xanthin, (5) Inosin und (6) AMP) in mindestens einer Studiengruppe ein Median über der NWG ermittelt. Am höchsten war die mediane mittlere Plasmakonzentration bei Uridin, gefolgt von Hypoxanthin, und AMP. Alle anderen Purin-/Pyrimidinderivate ließen sich in keiner der Plasmaproben nachweisen. Einen Überblick der ermittelten Quantile der gemessenen Mikronährstoffe gibt Abbildung 8 A&B. Alle in dieser Studie ermittelten Messwerte sind in Tabelle 20 zusammengefasst.

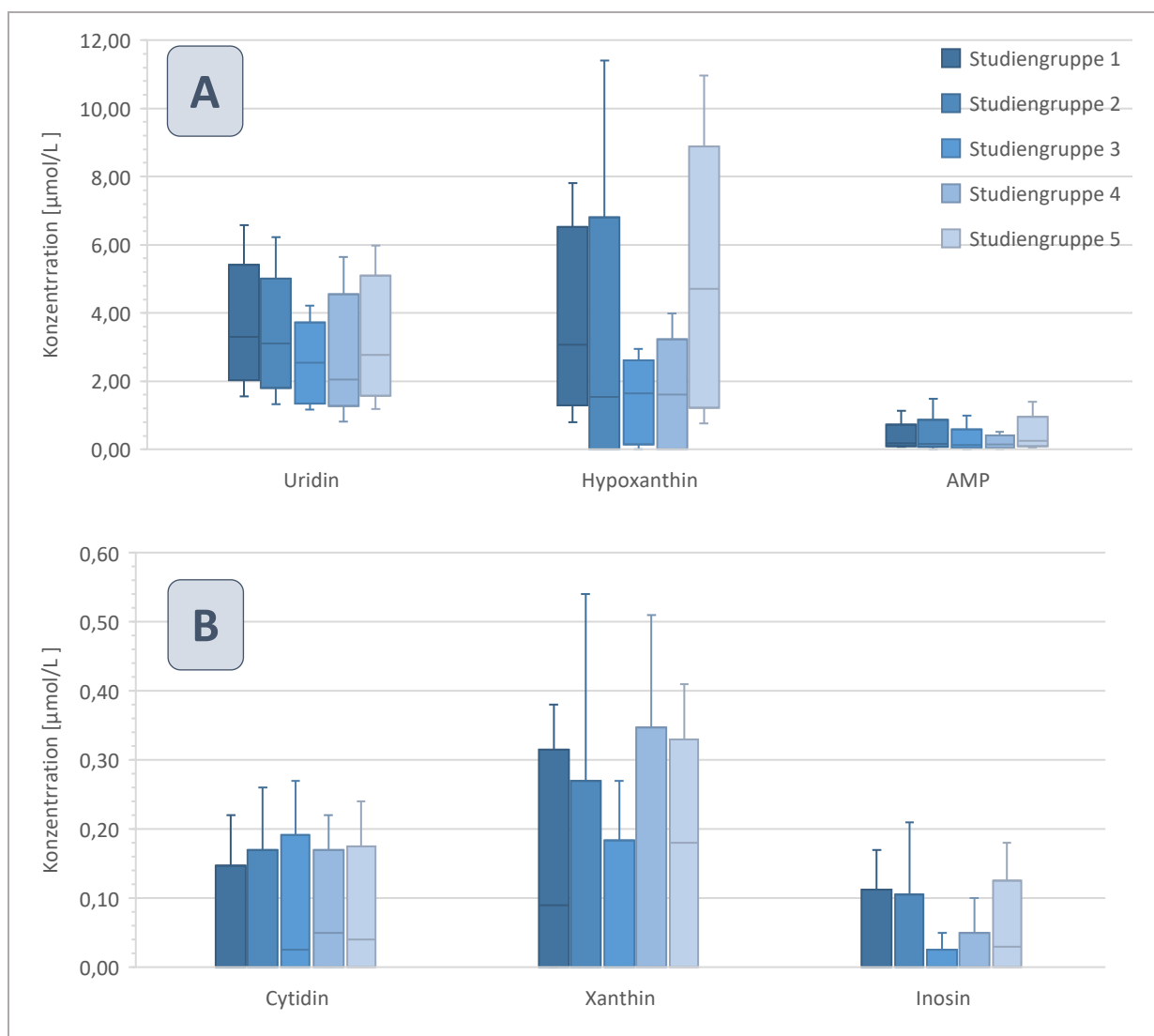


Abbildung 8 A&B: Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in µmol/L in den mütterlichen Plasmaproben.

Darstellung als Boxplots (Minimum, Maximum, erstes/drittes Quartil, Median) in Abhängigkeit der Studiengruppen.

Tabelle 20: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Mütter.

Abkürzungen: Konz. = Konzentration, Max. = Maximum, Med. = Median, Min. = Minimum, MW. = Messwerte, N = Absolute Anzahl, NWG. = Nachweisgrenze, p25 = 25%-Quantile, p75 = 75%-Quantile

	NWG	MW < NWG.	MW > NWG.	Studiengruppen					INSG. Konz. [µmol/L]		
				1	2	3	4	5	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.
	Konz. [µmol/L]	%	%	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.
Pyrimidinkonzentrationen [µmol/L]											
Cytosin	0,1	96	4	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,19
Uracil	1,0	97	3	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,41
Thymin	0,03	98	2	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,59
Pyrimidin-Nukleoside											
Cytidin	0,03	51	49	< NWG (0-0,08)	< NWG (0-0,08)	0,03 (0-0,11)	0,05 (0-0,12)	0,04 (0-0,11)	< NWG (0-0,09)	<NWG	0,26
Uridin	0,1	0	100	3,30 (2,50-4,27)	3,11 (2,29-3,79)	2,54 (1,51-3,24)	2,04 (1,71-3,45)	2,77 (1,97-4,21)	2,77 (1,89 – 3,65)	0,82	5,96
Thymidin	0,01	98	2	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,27
Pyrimidin-Nukleotide											
CMP	0,01	97	3	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG (0-0,01)	< NWG (0-0,01)	< NWG	<NWG	0,04
TMP	1,0	98	2	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	2,42
UMP	3,0	99	1	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	2,43

Tabelle 20 Fortsetzung: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Mütter
 Abkürzungen: Konz. = Konzentration, Max. = Maximum, Med. = Median, Min. = Minimum, MW. = Messwerte, N = Absolute Anzahl, NS = Nabelschnur, NWG. = Nachweisgrenze, p25 = 25%-Quantile, p75 = 75%-Quantile

	NWG	MW < NWG.	MW > NWG.	Studiengruppen					INSG. Konz. [µmol/L]			
				1	2	3	4	5	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.	
	Konz. [µmol/L]	%	%	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.	
Purinkonzentrationen [µmol/L]												
Adenin	0,03	98	2	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	<NWG	
Guanin	0,03	90	10	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG (0-0,30)	< NWG	<NWG	0,82	
Hypoxanthin	0,1	21	79	3,07 (1,80-5,25)	1,53 (0-2,19)	1,65 (0,31-2,28)	1,60 (0-2,48)	4,71 (1,67-6,79)	1,86 (1,15-3,62)	<NWG	10,26	
Xanthin	0,03	61	39	0,09 (0-0,25)	< NWG	< NWG (0-0,10)	< NWG (0-0,19)	0,18 (0-0,25)	< NWG (0-0,20)	<NWG	0,41	
Purin-Nukleoside												
Adenosin	0,01	84	16	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG (0-0,01)	< NWG	<NWG	0,04	
Guanosin	0,01	94	6	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,01	
Inosin	0,01	72	28	< NWG (0-0,06)	< NWG	< NWG	< NWG	0,03 (0-0,07)	< NWG (0,00-0,03)	<NWG	0,17	
Purin-Nukleotide												
AMP	0,01	2	98	0,18 (0,12-0,31)	0,17 (0,14-0,27)	0,14 (0,08-0,17)	0,15 (0,07-0,32)	0,25 (0,11-0,31)	0,17 (0,10-0,27)	<NWG	1,13	
GMP	0,01	82	18	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG (0-0,01)	< NWG	< NWG	<NWG	0,22	
IMP	0,3	99	1	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	0,00	0,10	

3.2.3 Plasmaproben der Kinder bei der ersten Blutentnahme

3.2.3.1 Pyrimidine – Plasmakonzentrationen im kindlichen Blut (BE1)

Die 150 kindlichen Plasmaproben der ersten BE max. 72h nach der Geburt, waren bezüglich der Pyrimidinbasen und -derivate weder in der Gesamtheit noch innerhalb der einzelnen Studiengruppen, normalverteilt.

Bei dem Nukleosid Cytidin konnten bei 105 (70%) Proben MW über der NWG ermittelt werden. Die ermittelten Konzentrationen innerhalb der Studiengruppen wiesen den niedrigsten Median ($0,04\mu\text{mol/L}$) in der Studiengruppe 5, den höchsten Median ($0,22\mu\text{mol/L}$) in Studiengruppe 2 auf ($p=0,0050$). Der Unterschied zwischen Studiengruppe 1 ($0,15\mu\text{mol/L}$) zur Gruppe der Reifgeborenen (5) war ebenfalls signifikant ($p=0,0188$).

Alle Uridin-Konzentrationen lagen oberhalb der NWG. Die ermittelten Konzentrationen lagen im Median zwischen $3,44\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 5 und $5,98\mu\text{mol/L}$ in der Studiengruppe 1 ($p=0,0087$).

Tabelle 21 zeigt die Messwerte der ersten Plasmaproben aller Früh- und Neugeborenen bezogen auf die Pyrimidinbasen und -derivate in Abhängigkeit der Studiengruppen.

3.2.3.2 Purine – Plasmakonzentrationen im kindlichen Blut (BE1)

Die Konzentration der Purinbasen und -derivate in der kindlichen ersten BE waren sowohl in der Gesamtheit als auch in den Studiengruppen nicht normalverteilt.

Die ermittelten Konzentrationen der Purinbase Hypoxanthin (99%) und Xanthin (70%) lagen zu großen Teilen über der Nachweisgrenze. Der niedrigste Hypoxanthin-Median wurde in Studiengruppe 2 ($7,68\mu\text{mol/L}$), der höchste ($10,6\mu\text{mol/L}$) in Studiengruppe 1, ermittelt. Die Konzentrationen der Studiengruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Auch bezüglich der Xanthin-Konzentration befand sich der niedrigste Median in Studiengruppe 2 ($0,13\mu\text{mol/L}$), der höchste dagegen in Studiengruppe 5 ($0,47\mu\text{mol/L}$) ($p=0,0057$). Dieser ist damit auch signifikant höher als in Studiengruppe 1 ($0,40\mu\text{mol/L}$).

Die Nukleoside Adenosin (58%) und Inosin (77%) wiesen bei über der Hälfte der ermittelten Konzentrationen, Werte über der NWG auf. Der höchste Adenosin-Median (0,05µmol/L) wurde in Studiengruppe 1 ermittelt, der niedrigste Median (0,00µmol/L) lag in Studiengruppe 4. Der Median der Inosin-Konzentrationen lag zwischen 0,06µmol/L in Studiengruppe 5, und 0,30µmol/L in Studiengruppe 1. Dieser Konzentrationsunterschied war damit statistisch signifikant ($p > 0,0001$).

Alle Proben der ersten BE der Kinder wiesen AMP-Konzentrationen über der NWG auf. Die Mediane der einzelnen Studiengruppen lagen zwischen 0,87µmol/L in der Gruppe der reifgeborenen NG und 1,96µmol/L in der Studiengruppe 1 der extremen FG ($p = 0,0115$).

59% der GMP-Konzentrationen lagen über der NWG. Dabei lag der niedrigste Median (0,00µmol/L) in der Gruppe 1 der extremem FG, der höchste in Studiengruppe 5 der reifgeborenen NG (0,08µmol/L).

3.2.3.3 Zusammenfassung – Konzentrationen ausgewählter Purine und Pyrimidine in den Plasmaproben der ersten BE der Kinder

Zusammenfassend wurde in der ersten BE der Kinder, in absteigender Konzentration für (1) Hypoxanthin, (2) Uridin, (3) AMP (4) Xanthin, (5) Inosin, (6) Cytidin, (7) GMP, (8) Adenosin, (9) Guanin und (10) CMP in mindestens einer Studiengruppe ein Median über der jeweiligen NWG ermittelt.

Im Blutplasma der ersten BE der Kinder in dieser Studie ließen sich folglich (1) Cytosin, (2) Thymin, (3) Uracil, (4) TMP, (5) UMP, (6) Adenin, (7) Guanosin, (8) GMP und (9) IMP nicht nachweisen.

Einen Überblick der ermittelten Quantile der gemessenen Mikronährstoffe gibt Abbildung 9 A&B.

Tabelle 21 stellt die in den Plasmaproben der ersten BE der Kinder ermittelten Konzentrationen aller Purine und Pyrimidine dar.

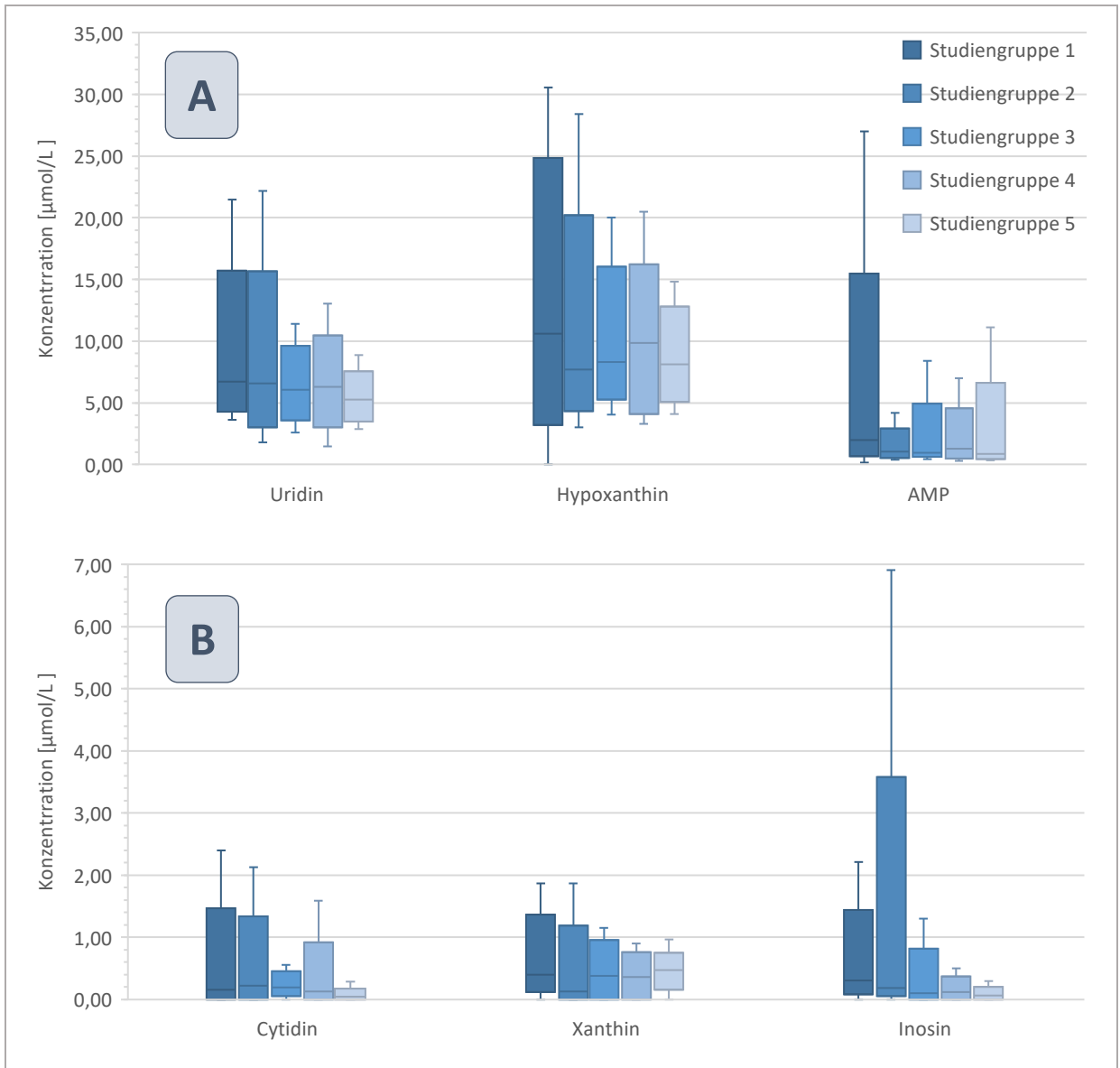


Abbildung 9 A&B: Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in $\mu\text{mol/L}$ in den Plasmaproben der ersten Blutentnahme der Kinder. Darstellung als Boxplots (Minimum, Maximum, erstes/drittes Quartil, Median) in Abhängigkeit der Studiengruppen.

Tabelle 21: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Kinder zur BE1
 Abkürzungen: Konz. = Konzentration, Max. = Maximum, Med. = Median, Min. = Minimum, MW. = Messwerte, N = Absolute Anzahl, NWG. = Nachweisgrenze, p25 = 25%-Quantile, p75 = 75%-Quantile

	NWG	MW < NWG.	MW > NWG.	Studiengruppen					INSG.		
				1	2	3	4	5	Konzentration [µmol/L]		
				Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.
Pyrimidinkonzentrationen [µmol/L]											
Cytosin	0,1	87	13	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG (0-0,03)	< NWG	<NWG	0,96
Uracil	1,0	97	3	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,61
Thymin	0,03	94	6	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	2,65
Pyrimidin-Nukleoside											
Cytidin	0,03	30	70	0,15 (0-0,53)	0,22 (0-0,55)	0,20 (0,10-0,35)	0,13 (0-0,25)	0,04 (0-0,07)	0,12 (0,00–0,31)	<NWG	1,28
Uridin	0,1	0	100	6,70 (4,89-9,90)	6,56 (4,27-9,18)	6,05 (4,53-7,84)	6,27 (4,60-7,84)	5,27 (4,12-6,26)	6,23 (4,49–8,19)	1,45	18,08
Thymidin	0,01	99 %	1 %	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,48
Pyrimidin-Nukleotide											
CMP	0,01	75 %	25 %	< NWG (0-0,05)	0,02 (0-0,03)	0,01 (0-0,03)	< NWG (0-0,01)	< NWG (0-0,03)	< NWG (0-0,03)	<NWG	0,18
TMP	1,0	99 %	1 %	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	<NWG
UMP	3,0	99 %	1 %	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	<NWG

Tabelle 21 Fortsetzung: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Kinder zur BE1
 Abkürzungen: Konz. = Konzentration, Max. = Maximum, Med. = Median, Min. = Minimum, MW. = Messwerte, N = Absolute Anzahl, NS = Nabelschnur, NWG. = Nachweisgrenze, p25 = 25%-Quantile, p75 = 75%-Quantile

	NWG	MW < NWG.	MW > NWG.	Studiengruppen					INSG.		
	Konz. [µmol/L]	%	%	1	2	3	4	5	Konzentration [µmol/L]		
				Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.
Purinkonzentrationen [µmol/L]											
Adenin	0,03	87	13	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,37
Guanin	0,03	77	23	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	0,52 (0,17-0,79)	< NWG	<NWG	1,64
Hypoxanthin	0,1	1	99	10,60 (6,40-19,08)	7,68 (5,64-12,05)	8,33 (6,50-12,11)	9,87 (4,89-11,98)	8,12 (6,07-10,77)	8,42 (6,11-12,16)	<NWG	28,40
Xanthin	0,03	30	70	0,40 (0,23-0,86)	0,13 (0-0,50)	0,38 (0-0,76)	0,36 (0-0,61)	0,47 (0,32-0,55)	0,37 (0-0,63)	<NWG	0,41
Purin-Nukeoside											
Adenosin	0,01	42	58	0,05 (0,02-0,12)	0,02 (0-0,03)	0,02 (0-0,04)	< NWG (0-0,03)	0,01 (0-0,02)	0,02 (0-0,04)	<NWG	0,53
Guanosin	0,01	94	6	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,19
Inosin	0,01	23	77	0,30 (0,15-0,70)	0,18 (0,10-0,26)	0,10 (0-0,33)	0,12 (0-0,23)	0,06 (0-0,11)	0,13 (0,04-0,26)	<NWG	6,69
Purin-Nukleotide											
AMP	0,01	0 %	100 %	1,96 (1,15-3,95)	1,06 (0,71-1,71)	0,96 (0,79-1,50)	1,26 (0,68-2,16)	0,87 (0,58-2,12)	1,18 (0,75-2,21)	0,17	12,10
GMP	0,01	41 %	59 %	< NWG (0-0,14)	0,07 (0-0,14)	0,05 (0-0,11)	0,06 (0-0,13)	0,08 (0,01-0,16)	0,05 (0-0,14)	<NWG	0,91
IMP	0,3	97 %	3 %	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	<NWG	0,30

3.2.4 Plasmaproben der Kinder bei der zweiten Blutentnahme

3.2.4.1 Pyrimidine – Plasmakonzentrationen im kindlichen Blut (BE2)

Die Pyrimidinkonzentrationen der zweiten BE waren nicht normalverteilt.

Die ermittelten Cytidin-Konzentrationen lagen zu 60% über der NWG. Der höchste Median lag in Studiengruppe 4 (0,28µmol/L), der niedrigste (0,00µmol/L) in Studiengruppe 1 (p=0,3627). Zwischen Gruppe 1 und 3 (0,20µmol/L) bestand einzig ein signifikanter Unterschied (p=0,334).

99% der Uridin-Konzentrationen lagen über der NWG. Der Median lag zwischen 4,81µmol/L in Studiengruppe 2 und 6,09µmol/L in Studiengruppe 1. Zwischen den Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

3.2.4.2 Purine – Plasmakonzentrationen im kindlichen Blut (BE2)

Die Konzentration der Purinbasen und -derivate in den kindlichen zweiten BE waren nicht normalverteilt.

Die ermittelten Hypoxanthin-Konzentrationen lagen zu 99% über der NWG, die der Purinbase Xanthin zu 51%. Die niedrigste mittlere Hypoxanthin-Konzentration wurde in Studiengruppen 4 (4,13µmol/L), die höchste in Studiengruppe 3 (6,24µmol/L) ermittelt. Dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant (p=1,000). Die mittlere Xanthin-Konzentration unterschied sich zwischen den Studiengruppen ebenfalls nicht signifikant und wies mit 0,29µmol/L den höchsten Median in Studiengruppe 3 auf.

Bezugnehmend auf das Nukleomonophosphat AMP konnten bei allen Proben (100%) MW über der NWG ermittelt werden. Der höchste Median lag in Studiengruppe 1 (1,36µmol/L). Der niedrigste Median lag in Studiengruppe 3 (0,71µmol/L). Es bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

Tabelle 22 stellt die in den Plasmaproben der zweiten BE der Kinder ermittelten Konzentrationen aller Purine und Pyrimidine sowie deren Derivate dar.

3.2.4.3 Zusammenfassung – Konzentrationen ausgewählter Purine und Pyrimidine in den Plasmaprobe n der zweiten BE der Kinder

Zusammenfassend wurde im Plasma der zweiten BE der Kinder in dieser Studie – in absteigender Höhe - für (1) Uridin, (2) Hypoxanthin, (3) AMP, (4) Xanthin, (5) Cytidin, (6) GMP, (7) Inosin (8) Adenosin und (9) CMP in mindestens einer Studiengruppe ein Median über der NWG ermittelt. Alle weiteren Purine/Pyrimidine konnten nicht nachgewiesen werden.

Einen Überblick der ermittelten Quantile der gemessenen Mikronährstoffe gibt Abbildung 10 A&B. Alle in dieser Studie ermittelten Messwerte sind in Tabelle 22 ersichtlich.

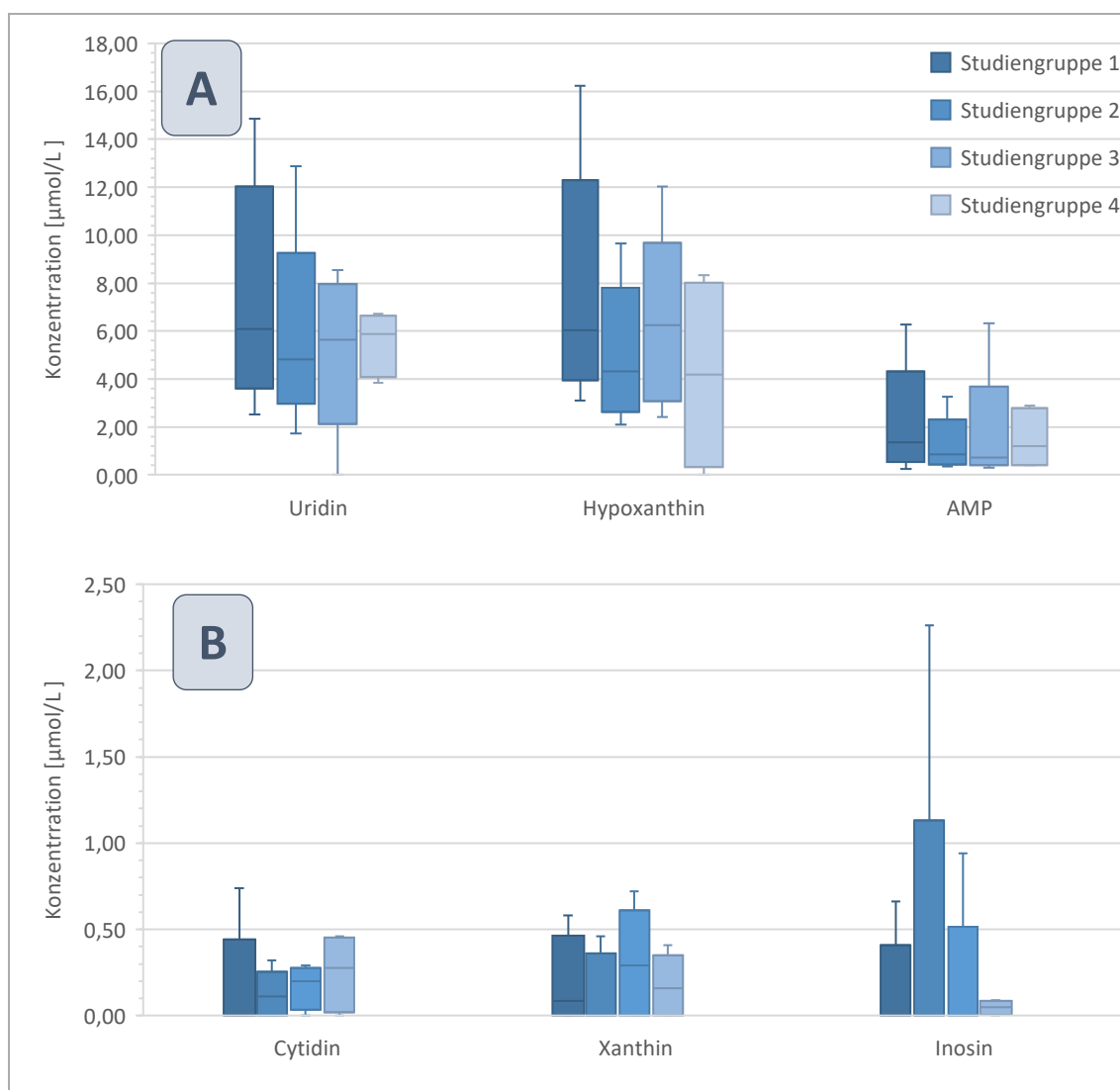


Abbildung 10 A&B: Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in µmol/L in den Plasmaprobe n der zweiten Blutentnahme der Kinder. Darstellung als Boxplots (Minimum, Maximum, erstes/drittes Quartil, Median) in Abhängigkeit der Studiengruppen.

Tabelle 22: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Kinder zur BE2
 Abkürzungen: Konz. = Konzentration, Max. = Maximum, Med. = Median, Min. = Minimum, MW. = Messwerte, N = Absolute Anzahl, NWG. = Nachweisgrenze, p25 = 25%-Quantile, p75 = 75%-Quantile

	NWG	MW< NWG.	MW> NWG.	Studiengruppen (Konz. [µmol/L])				INSG. Konz. [µmol/L]		
				1	2	3	4	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.
	Konz. [µmol/L]	%	%	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Min.	Max.
Pyrimidinkonzentrationen [µmol/L]										
Cytosin	0,1	100	0	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
Uracil	1,0	100	0	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
Thymin	0,03	94	6	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	0,03
Pyrimidin-Nukleoside										
Cytidin	0,03	30	70	0,00 (0,00-0,14)	0,11 (0,00-0,19)	0,20 (0,07-0,26)	0,28 (0,04-0,45)	0,12 (0,00 – 0,21)	< NWG	0,55
Uridin	0,1	0	100	6,09 (4,70-9,23)	4,81 (4,19-5,62)	5,64 (4,26-7,35)	5,87 (4,32-6,54)	5,42 (4,24 – 7,33)	< NWG	13,32
Thymidin	0,01	99	1	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
Pyrimidin-Nukleotide										
CMP	0,01	80	20	< NWG (0,00-0,02)	0,01 (0,00-0,02)	< NWG (0,00-0,03)	< NWG (0,00-0,01)	0,01 (0,00-0,02)	< NWG	0,07
TMP	1,0	99	1	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	1,53
UMP	3,0	96	4	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	3,43

Tabelle 22 Fortsetzung: Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und deren Derivate in Plasmaproben der Kinder zur BE1
 Abkürzungen: Konz. = Konzentration, Max. = Maximum, Med. = Median, Min. = Minimum, MW. = Messwerte, N = Absolute Anzahl, NWG. = Nachweisgrenze, p25 = 25%-Quantile, p75 = 75%-Quantile

	NWG	MW< NWG.	MW> NWG.	Studiengruppen				INSG. Konz. [$\mu\text{mol/L}$]		
				1	2	3	4	Med. (p25 – 75)	Max.	Min.
	Konz. [$\mu\text{mol/L}$]	%	%	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Med. (p25 – 75)	Max.	Min.
Purinkonzentrationen [$\mu\text{mol/L}$]										
Adenin	0,03	93	7	< NWG	< NWG	< NWG (0,00-0,14)	< NWG	< NWG	< NWG	0,34
Guanin	0,03	97	3	< NWG	< NWG	< NWG (0,00-0,21)	< NWG	< NWG	< NWG	0,37
Hypoxanthin	0,1	1	99	6,03 (4,80-8,39)	4,32 (3,16-5,95)	6,24 (3,72-7,31)	4,19 (0,64-7,69)	5,44 (3,73 – 6,89)	< NWG	15,25
Xanthin	0,03	49	51	0,09 (0,00-0,35)	< NWG (0,00-0,26)	0,29 (0,00-0,50)	0,16 (0,00-0,39)	0,14 (0,00 – 0,36)	< NWG	0,66
Purin-Nukleoside										
Adenosin	0,01	51	49	0,03 (0,00-0,05)	< NWG (0,00-0,02)	< NWG (0,00-0,02)	< NWG	< NWG	< NWG	0,44
Guanosin	0,01	97	3	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	0,05
Inosin	0,01	66	34	< NWG (0,00-0,16)	< NWG	< NWG (0,00-0,09)	0,05 (0,01-0,08)	< NWG (0,00 – 0,09)	< NWG	1,24
Purin-Nukleotide										
AMP	0,01	0	100	1,36 (0,82-2,36)	0,85 (0,53-1,37)	0,71 (0,49-1,03)	1,20 (0,42-2,66)	0,90 (0,58 – 1,73)	0,24	6,28
GMP	0,01	51	49	< NWG (0,00-0,05)	0,07 (0,00-0,11)	< NWG (0,00-0,09)	< NWG	< NWG	< NWG	1,03
IMP	0,3	100	0	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG

Zu weiteren Analysen wurden auf Grundlage der Ergebnisse in der Konzentrationsanalyse folgende sechs Pyrimidine und Purine herangezogen:

1. Cytidin
2. Uridin
3. Hypoxanthin
4. Xanthin
5. Inosin
6. AMP.

Die Auswahl erfolgte für alle Nucleoside und -tide, die in einer Probandengruppe (Mutter, NS, Kind BE1, Kind BE2) mehr als 80% der MW über der NWG aufwiesen und somit eine weitere Analyse als sinnvoll erscheinen ließ.

Tabelle 23: Gemessene Zielsubstrate

Pyrimidinbase	Nucleosid (Base + Pentose)	Nucleotidmonophosphat (Base + Pentose + Phosphat)
<i>Cytosin</i>	Cytidin*	<i>CMP</i>
<i>Thymin</i>	<i>Thymidin</i>	<i>TMP</i>
<i>Uracil</i>	Uridin*	<i>UMP</i>
Purinbase	Nucleosid	Nucleotidmonophosphat
<i>Adenin</i>	<i>Adenosin</i>	AMP*
<i>Guanin</i>	<i>Guanosin</i>	<i>GMP</i>
Hypoxanthin*	Inosin*	<i>IMP</i>
Xanthin*		
* mit relevanten Anteilen mittels ESI-MS im Plasma (NS, Mutter, Kinder BE1/BE2) nachweisbar <80% der Messwerte über der NWG		

3.2.5 Konzentrationsunterschiede zwischen den Studiengruppen

Die ermittelten statistischen Kennzahlen sowie die Effektstärke zu den Konzentrationsunterschieden der ausgewählten Purine und Pyrimidine sind in Tabelle 24 dargestellt.

Tabelle 24: Statistische Kennzahlen der Konzentrationsunterschiede zwischen den Studiengruppen. Auswertung nach 1. Kruskal-Wallis und 2. Dunn-Bonferroni (unabhängige Stichproben Mutter, Nabelschnur) bzw. 2. Wilcoxon-Test (abhängige Stichproben BE1, BE2). Abkürzungen: FG = Frühgeborene, SSW = Schwangerschaftswoche

		Gruppe 1: 23.-27. SSW,		Gruppe 2: 28.-31. SSW,		Gruppe 3: 32.-34. SSW,		Gruppe 4 35.-36. SSW,		Gruppe 5: 37.-42. SSW				
	Referenz- gruppe	Vergleichs- gruppe	PURINE				PYRIMIDINE							
			Cytidin		Uridin		Hypoxanthin		Xanthin		Inosin		AMP	
			Z	p-Wert	Z	p-Wert	Z	p-Wert	Z	p-Wert	Z	p-Wert	Z	p-Wert
NABELSCHNUR														
Vergleiche FG (Gruppe 1-4) mit den Reifgeborenen (Gruppe 5)	1	5	5,72	<,0001	4,49	<,0001	3,70	0,0009	1,04	1,0000	4,99	<,0001	2,71	0,0266
	2	5	4,92	<,0001	3,57	0,0014	3,01	0,0104	0,72	1,0000	3,00	0,0107	2,42	0,0619
	3	5	3,58	0,0009	1,09	1,0000	1,23	0,8792	-0,42	1,0000	1,17	0,9701	0,05	1,0000
	4	5	2,36	0,0741	2,29	0,0887	1,09	1,0000	-1,28	0,8087	1,13	1,0000	-0,67	1,0000
Vergleiche innerhalb der FG (Gruppe 1-4)	2	1	-0,84	1,0000	-0,95	1,0000	-0,71	1,0000	-0,33	1,0000	-2,01	0,4425	-0,31	1,0000
	3	1	-2,16	0,3059	-3,48	0,0050	-2,54	0,1106	-1,47	1,0000	-3,91	0,0009	-3,42	0,0062
	4	1	-3,51	0,0043	-2,33	0,2000	-2,70	0,0693	-2,33	0,1975	-3,99	0,0007	-2,73	0,0632
	3	2	-1,31	1,0000	-2,54	0,1113	-1,83	0,6696	-1,15	1,0000	-1,88	0,6009	-3,13	0,0173
	4	2	-2,68	0,0737	-1,37	1,0000	-1,99	0,4685	-2,01	0,4424	-1,94	0,5213	-2,43	0,1505
4	3	-1,38	1,0000	1,21	1,0000	-0,14	1,0000	-0,86	1,0000	-0,05	1,0000	0,73	1,0000	
MUTTER														
Vergleiche FG (Gruppe 1-4) mit den Reifgeborenen (Gruppe 5)	1	5	-1,91	0,2223	0,96	1,0000	-0,50	1,0000	-1,09	1,0000	-2,78	0,0219	-0,49	1,0000
	2	5	-1,21	0,9097	0,46	1,0000	-3,95	0,0003	-3,31	0,0037	-4,93	<,0001	-0,73	1,0000
	3	5	-0,40	1,0000	-1,63	0,4103	-3,47	0,0021	-3,02	0,0100	-4,37	<,0001	-2,81	0,0199
	4	5	-0,32	1,0000	-1,28	0,8039	-3,90	0,0004	-2,55	0,0437	-3,71	0,0008	-1,65	0,3986
	2	1	0,75	1,0000	-0,52	1,0000	-3,21	0,0134	-2,02	0,4295	-1,89	0,5899	-0,19	1,0000
	3	1	1,49	1,0000	-2,48	0,1331	-2,77	0,0557	-1,77	0,7717	-1,39	1,0000	-2,15	0,3133

Fortsetzung Tabelle 24: Statistische Kennzahlen der Konzentrationsunterschiede zwischen den Studiengruppen.
 Auswertung nach 1. Kruskal-Wallis und 2. Dunn-Bonferroni (unabhängige Stichproben Mutter, Nabelschnur) bzw. 2. Wilcoxon-Test
 (abhängige Stichproben BE1, BE2). Abkürzungen: FG = Frühgeborene, SSW = Schwangerschaftswoche

		Gruppe 1: 23.-27. SSW,		Gruppe 2: 28.-31. SSW,		Gruppe 3: 32.-34. SSW,		Gruppe 4 35.-36. SSW,		Gruppe 5: 37.-42. SSW				
MUTTER	Referenz- gruppe	Vergleichs- gruppe	PURINE				PYRIMIDINE							
			Cytidin		Uridin		Hypoxanthin		Xanthin		Inosin		AMP	
			Z	p-Wert	Z	p-Wert	Z	p-Wert	Z	p-Wert	Z	p-Wert	Z	p-Wert
Vergleiche innerhalb der FG (Gruppe 1-4)	4	1	1,58	1,0000	-2,15	0,3150	-3,16	0,0158	-1,31	1,0000	-0,74	1,0000	-1,06	1,0000
	3	2	0,78	1,0000	-2,05	0,4029	0,42	1,0000	0,24	1,0000	0,50	1,0000	-2,05	0,4068
	4	2	0,85	1,0000	-1,71	0,8769	0,05	1,0000	0,75	1,0000	1,19	1,0000	-0,90	1,0000
	4	3	0,07	1,0000	0,36	1,0000	-0,37	1,0000	0,49	1,0000	0,68	1,0000	1,15	1,0000
KIND BE 1														
Vergleiche FG (Gruppe 1-4) mit den Reifgeborenen (Gruppe 5)	1	5	2,83	0,0188	3,06	0,0087	1,79	0,2965	0,14	1,0000	4,96	<,0001	2,98	0,0115
	2	5	3,23	0,0050	1,91	0,2241	-0,06	1,0000	-2,07	0,1537	3,19	0,0057	0,14	1,0000
	3	5	3,37	0,0030	1,78	0,3013	0,68	1,0000	-0,27	1,0000	2,33	0,0796	0,34	1,0000
	4	5	2,28	0,0908	1,84	0,2622	0,23	1,0000	-1,30	0,7768	1,85	0,2566	0,37	1,0000
Vergleiche innerhalb der FG (Gruppe 1-4)	2	1	0,31	1,0000	-1,21	1,0000	-1,86	0,6235	-2,18	0,2930	-1,87	0,6169	-2,86	0,0421
	3	1	0,41	1,0000	-1,39	1,0000	-1,16	1,0000	-0,41	1,0000	-2,79	0,0527	-2,71	0,0671
	4	1	-0,63	1,0000	-1,30	1,0000	-1,58	1,0000	-1,42	1,0000	-3,22	0,0128	0,22	0,0772
	3	2	0,09	1,0000	-0,16	1,0000	0,75	1,0000	1,85	0,6484	-0,92	1,0000	-2,66	1,0000
	4	2	-0,98	1,0000	-0,08	1,0000	0,30	1,0000	0,79	1,0000	-1,37	1,0000	0,22	1,0000
	4	3	-1,09	1,0000	0,08	1,0000	-0,44	1,0000	-1,05	1,0000	-0,47	1,0000	0,03	1,0000
KIND BE 2														
Vergleiche innerhalb der FG (Gruppe 1-4)	1	4	1,88	0,3627	-0,34	1,0000	-1,62	0,7184	0,03	1,0000	0,43	1,0000	-0,82	1,0000
	2	4	1,29	1,0000	0,75	1,0000	-0,03	1,0000	0,62	1,0000	1,57	0,6961	0,22	1,0000
	3	4	0,17	1,0000	0,04	1,0000	-0,92	1,0000	-0,81	1,0000	0,49	1,0000	0,41	1,0000
	2	1	1,15	1,0000	-2,13	0,1979	-3,05	0,0138	-1,13	1,0000	-2,16	0,1824	-2,03	0,2518
	3	1	2,77	0,0334	-0,68	1,0000	-1,07	1,0000	1,47	0,8455	-0,13	1,0000	-2,09	0,2223
	3	2	1,82	0,4098	1,16	1,0000	1,56	0,7184	6,17	0,0753	1,74	0,4878	-0,35	1,0000

3.3 Konzentrationen in Nabelschnur-Plasmaproben und mütterlichen Plasmaproben in Abhängigkeit vom Gestationsalter

Zur Klärung der Frage, ob die Konzentration ausgewählter Purine/Pyrimidine in der NS und den mütterlichen Blutproben abhängig vom Gestationsalter ist, wurden Korrelationsanalysen durchgeführt. Dabei wird davon ausgegangen, dass die Konzentrationen in den Plasmaproben der NS denen eines Referenzfetus der entsprechenden SSW gleichkommen.

3.3.1 *Pyrimidinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters*

Während die Cytidin-Konzentrationen im mütterlichen Plasma mit steigenden Gestationsalter signifikant anstiegen (Spearman $\rho=0,19$, $p=0,039$), nahmen sie in den NS-Plasmaproben (Spearman $\rho=-0,52$, $p<0,0001$) signifikant ab.

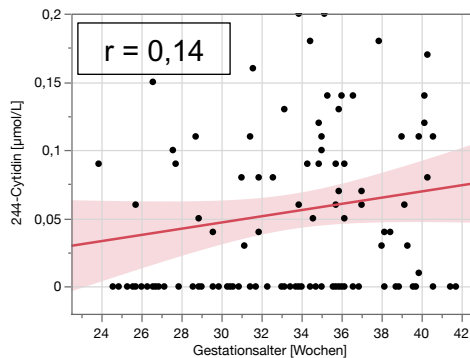


Abbildung 11: Cytidin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte ($N=122$) und die Regressionsgerade. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

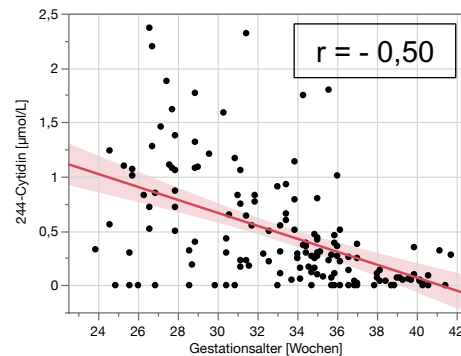


Abbildung 12: Cytidin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte ($N=150$) und die Regressionsgerade. Korrelationskoeffizient r nach Spearman.

Die Uridin-Plasmakonzentration der Mütter (Spearman $\rho = - 0,1178$, $p = 0,1962$) und der NS-Proben (Spearman $\rho = -0,3604$, $p<0,0001$) sanken mit steigendem Gestationsalter.

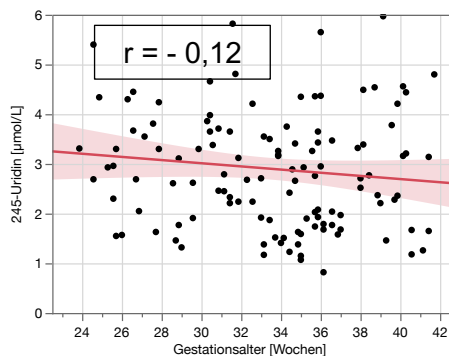


Abbildung 13: Uridin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte ($N=122$) und die Regressionsgerade.

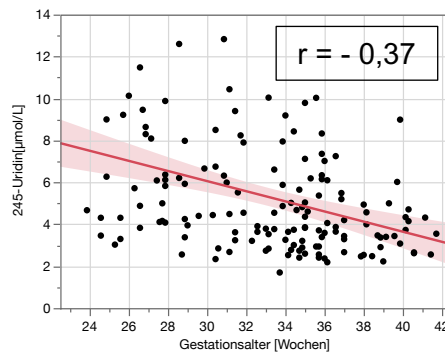


Abbildung 14: Uridin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte ($N=150$) und die Regressionsgerade.

3.3.2 Purinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalter

Die Hypoxanthin-Konzentration in den mütterlichen Proben nahm mit steigendem Gestationsalter signifikant zu (Spearman $\rho = 0,08$, $p=0,3869$), während sie in den NS-Proben signifikant abnahm (Spearman $\rho = -0,3373$, $p < 0,0001$).

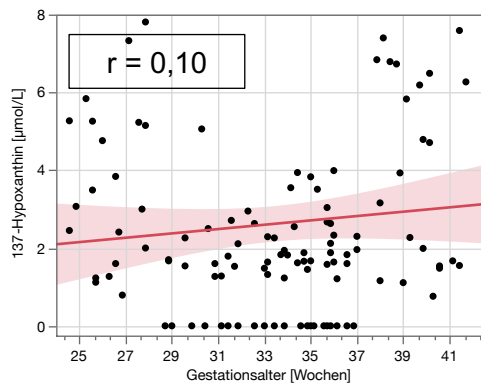


Abbildung 15: Hypoxanthin-Konzentration [µmol/L] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte (N=122) und die Anpassungslinie. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

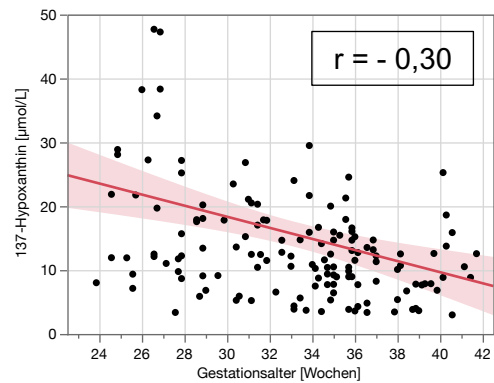


Abbildung 16: Hypoxanthin-Konzentration [µmol/L] in der Nabelschnur nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte (N=150) und die Anpassungslinie. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

Die Xanthin-Konzentration ergab in der Korrelationsanalyse der mütterlichen Proben (Spearman $\rho = 0,1356$, $p=0,1364$) und der NS (Spearman $\rho = -0,1261$, $p=0,1241$) keinen signifikanten Zusammenhang zum Gestationsalter.

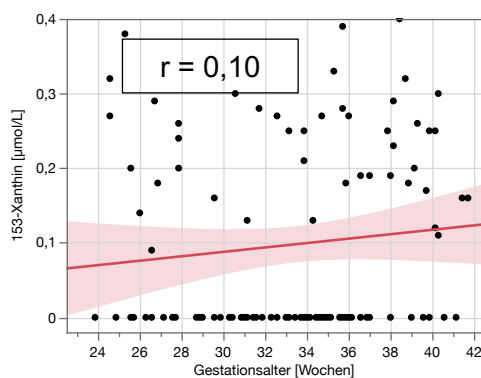


Abbildung 17: Xanthin-Konzentration [µmol/L] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte (N=122) und die Anpassungslinie. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

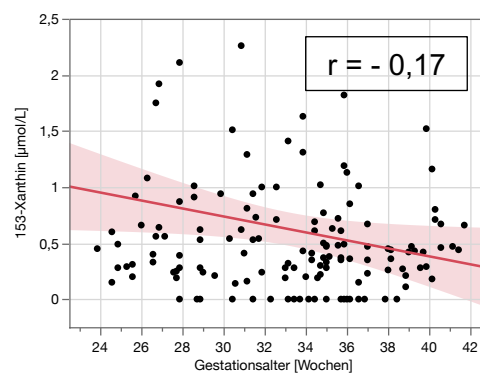


Abbildung 18: Xanthin-Konzentration [µmol/L] in der Nabelschnur nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte (N=150) und die Anpassungslinie. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

Die Inosin-Konzentration in den mütterlichen Plasmaproben (Spearman $\rho=0,3209$, $p = 0,0003$) korrelierte signifikant positiv mit dem Gestationsalter, die Konzentrationen im NS-Plasma dagegen signifikant negativ (Spearman $\rho = -0,4265$, $p<0,00001$).

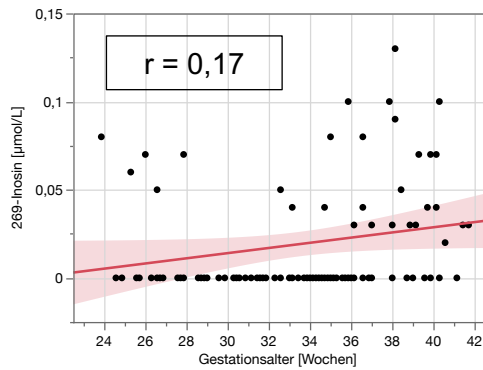


Abbildung 19: Inosin Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte ($N=122$) und die Anpassungslinie. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

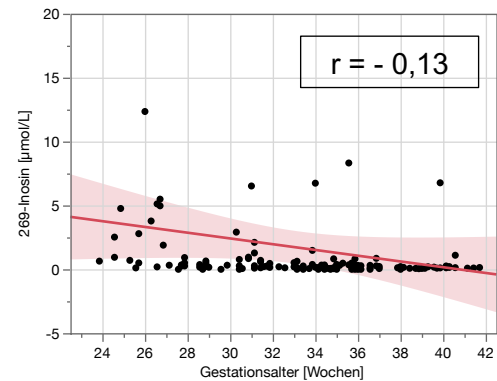


Abbildung 20: Inosin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte ($N=150$) und die Anpassungslinie. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

Die AMP-Konzentration in den mütterlichen Proben wiesen keinen Zusammenhang mit dem Gestationsalter auf (Spearman $\rho = 0,0270$, $p = 0,7676$). In den NS-Plasmaproben nahm die Konzentration mit steigendem Gestationsalter signifikant ab (Spearman $\rho = -0,2812$, $p = 0,0005$).

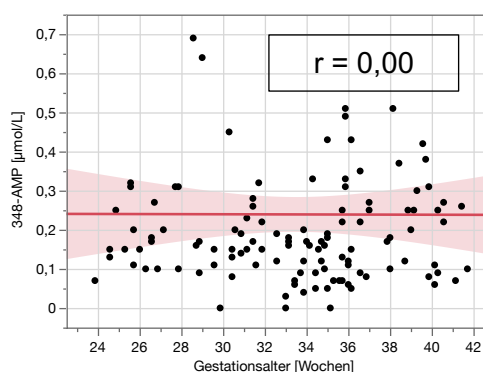


Abbildung 21: AMP-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] im mütterlichen Plasma nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte ($N=122$) und die Anpassungslinie. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

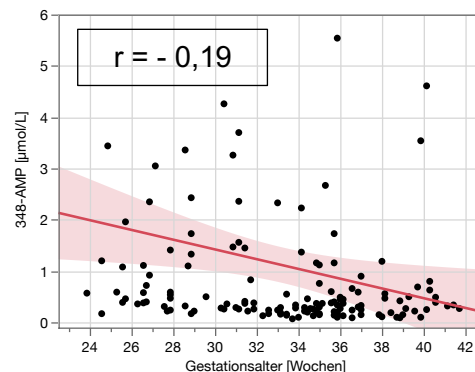


Abbildung 22: AMP -Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in der Nabelschnur nach Gestationsalter. Dargestellt sind Einzelwerte ($N=150$) und die Anpassungslinie. Korrelationskoeffizient r nach Pearson.

3.3.3 Zusammenfassung Korrelation der Konzentration ausgewählter Purine und Pyrimidine mit dem Gestationsalter bei Geburt

Zur Prüfung ob die Konzentrationen der ausgewählten Purine und Pyrimidine im NS-Plasma und im Blut der Mütter zwischen Früh- und Neugeborenen unterschiedlich sind, wurden diese in Abhängigkeit zum Gestationsalter gestellt.

Tabelle 24 zeigt die nach Spearman berechneten Korrelationskoeffizienten sowie die zugehörigen Signifikanzwerte zwischen den Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine und dem Gestationsalter für die Nabelschnur und die mütterlichen Plasmaproben.

Tabelle 25: Plasmakonzentration ausgewählter Mikronährstoffe in der Nabelschnur und mütterlichen Plasmaproben in Korrelation zum Gestationsalter

Purine	Mutter		Nabelschnur	
	Spearman ρ	p-Wert	Spearman ρ	p-Wert
Cytidin	0,19	0,039	-0,52	<,0001
Uridin	-0,12	0,196	-0,36	<,0001
Pyrimidine				
Hypoxanthin	0,08	0,386	-0,34	<,0001
Xanthin	0,14	0,136	-0,13	0,1241
Inosin	0,32	0,0003	- 0,43	< 0,0001
AMP	0,03	0,753	-0,28	0,0005

3.4 Konzentrationsunterschiede zwischen Mutter, Nabelschnur und Kind in Abhängigkeit der Studiengruppen

Zur Beantwortung der Fragestellung, inwiefern sich die Blutplasma-Konzentrationen in Abhängigkeit der Studiengruppen zwischen den Müttern, Kindern und der Nabelschnur unterschieden, wurden die in der Konzentrationsanalyse ermittelten Werte in ein Boxplot überführt. Im Folgenden (Tabelle 26) wurden die Unterschiede auf ihre statische Signifikanz geprüft.

3.4.1 *Ausgewählte Pyrimidine – Konzentrationsunterschiede*

Die in dieser Studie ermittelten Cytidin-Konzentrationen in den Blutplasmaproben der NS, der Mütter und der Kinder innerhalb der Studiengruppen ergibt die in Abbildung 23 bzw. 24 dargestellten Boxplots/ Balkendiagramme der Mediane.

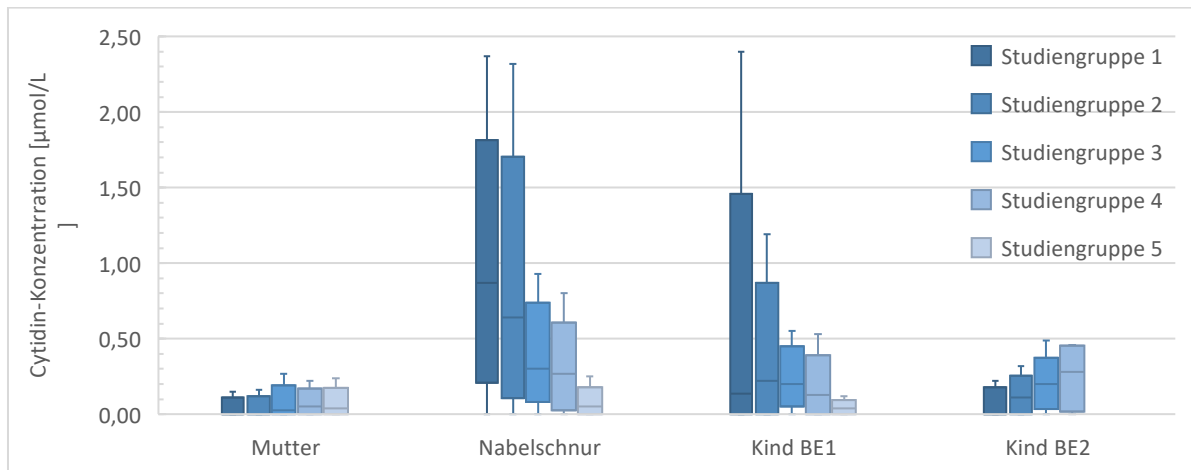


Abbildung 23: Boxplots der Cytidin-Konzentration [µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen. Dargestellt sind Minimum, Maximum, Interquartilsabstand sowie der Median.

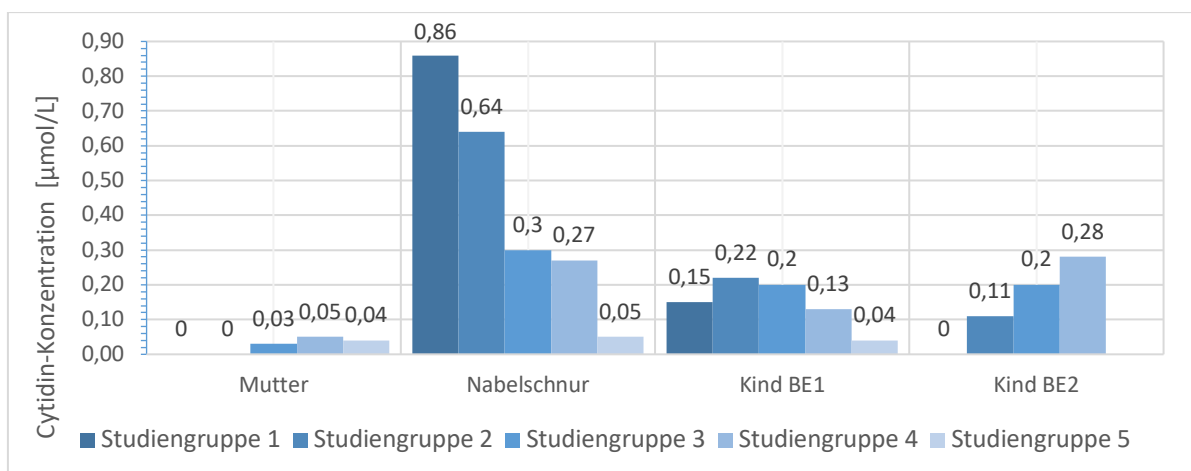


Abbildung 24: Median der Cytidin-Konzentration [µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.

Die Boxplots der ermittelten Uridin-Konzentrationen im mütterlichen, und kindlichen Blutplasma sowie in den NS-Plasmaproben in Abhängigkeit der Studiengruppen sind in Abbildung 25 dargestellt. Die Balkendiagramme der Mediane der Uridin-Konzentration sind in Abbildung 26 dargestellt.

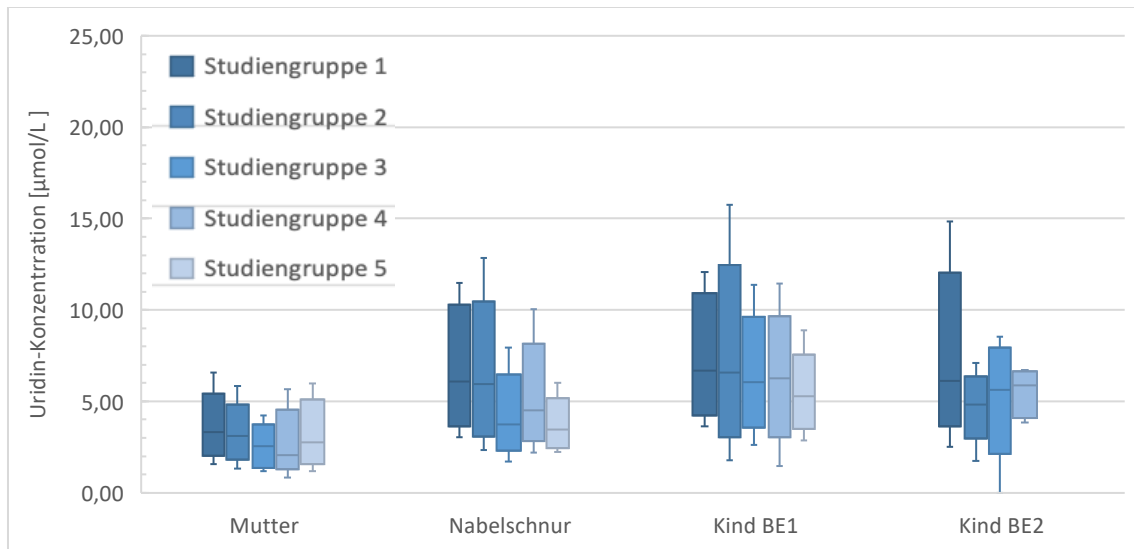


Abbildung 25: Boxplots der Uridin-Konzentration [µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen. Dargestellt sind Minimum, Maximum, Interquartilsabstand sowie die Mediane.

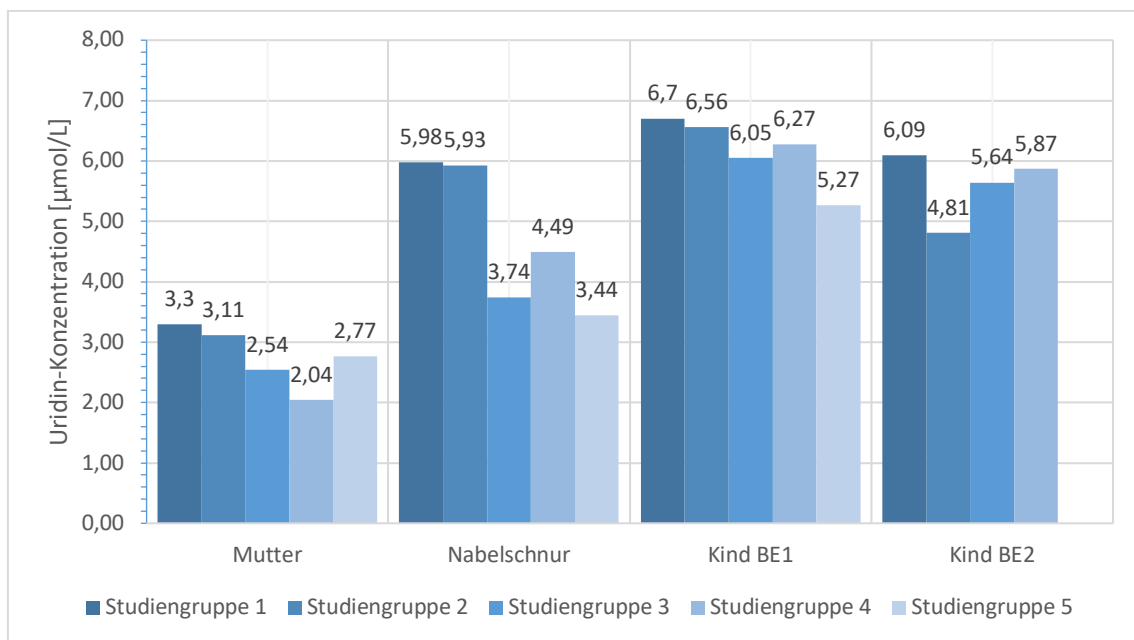


Abbildung 26: Median der Uridin-Konzentration [µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.

3.4.2 Ausgewählte Purine – Konzentrationsunterschiede

Die in dieser Studie ermittelten Hypoxanthin-Konzentrationen in den Blutplasmaproben der NS, der Mütter und der Kinder innerhalb der Studiengruppen ergibt die in Abbildung 27 dargestellten Boxplots bzw. Balkendiagramme der Mediane (Abbildung 28).

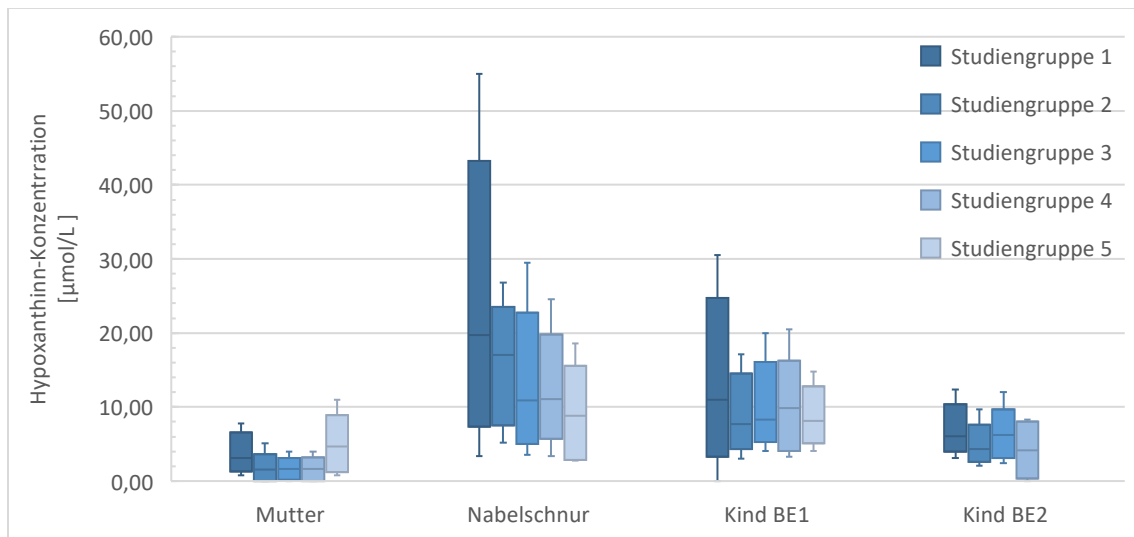


Abbildung 27: Boxplots der Hypoxanthin-Konzentration [µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen. Dargestellt sind Minimum, Maximum, Interquartilsabstand sowie die Mediane.

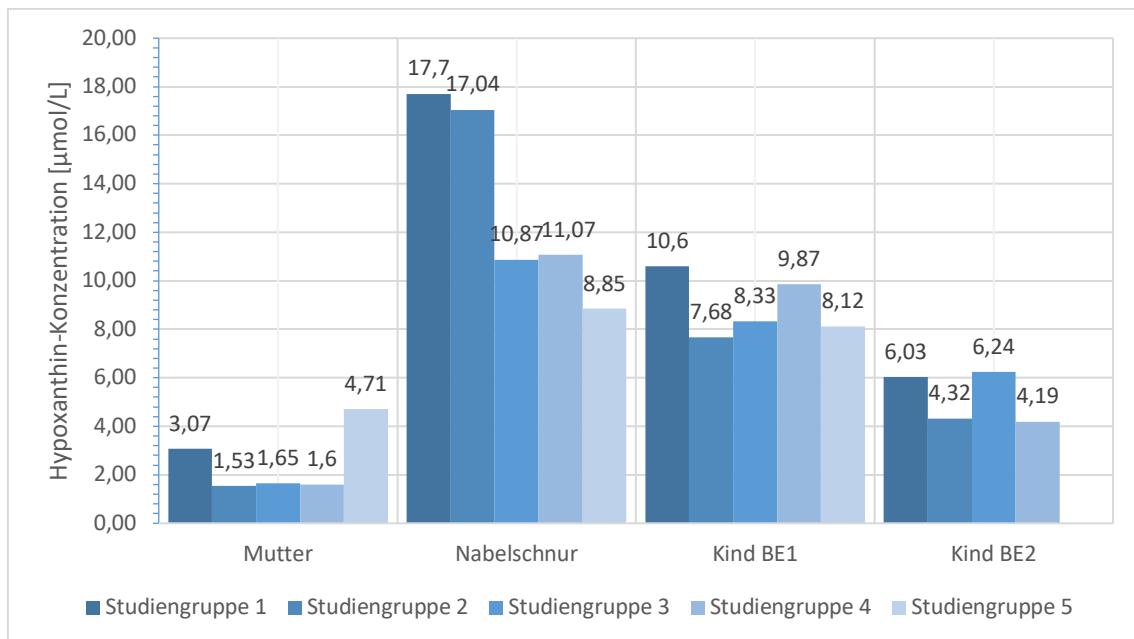


Abbildung 28: Median der Hypoxanthin-Konz. [µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, NS und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.

Die Boxplots der ermittelten Xanthin-Konzentrationen im mütterlichen, und kindlichen Blutplasma sowie in den NS-Plasmaproben in Abhängigkeit der Studiengruppen sind in Abbildung 29 dargestellt. Die Balkendiagramme der Mediane der Uridin-Konzentration sind in Abbildung 30 dargestellt.

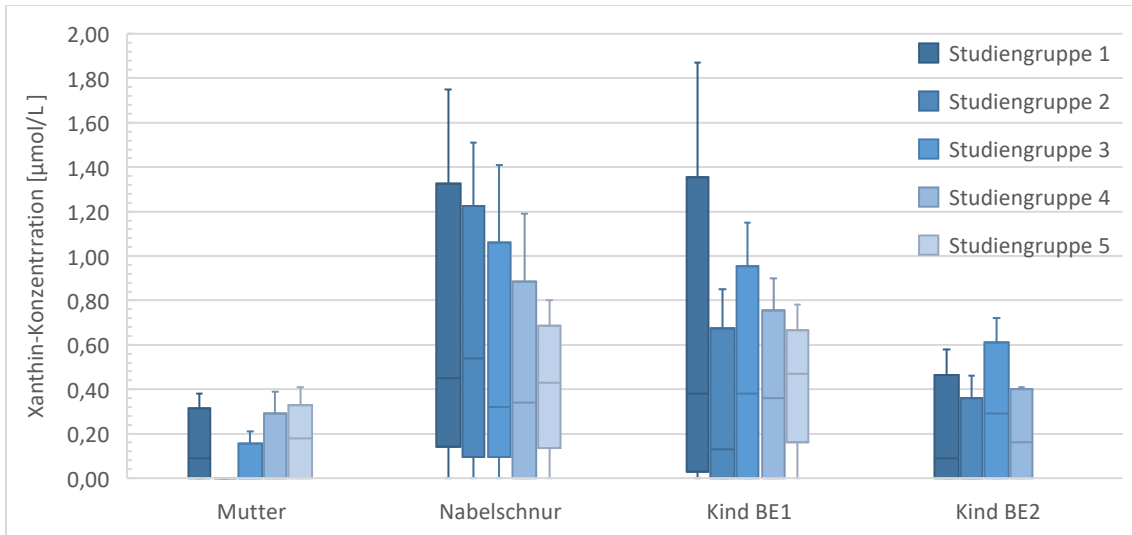


Abbildung 29: Boxplots der Xanthin-Konzentration[µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen. Dargestellt sind Minimum, Maximum, Interquartilsabstand sowie die Mediane.

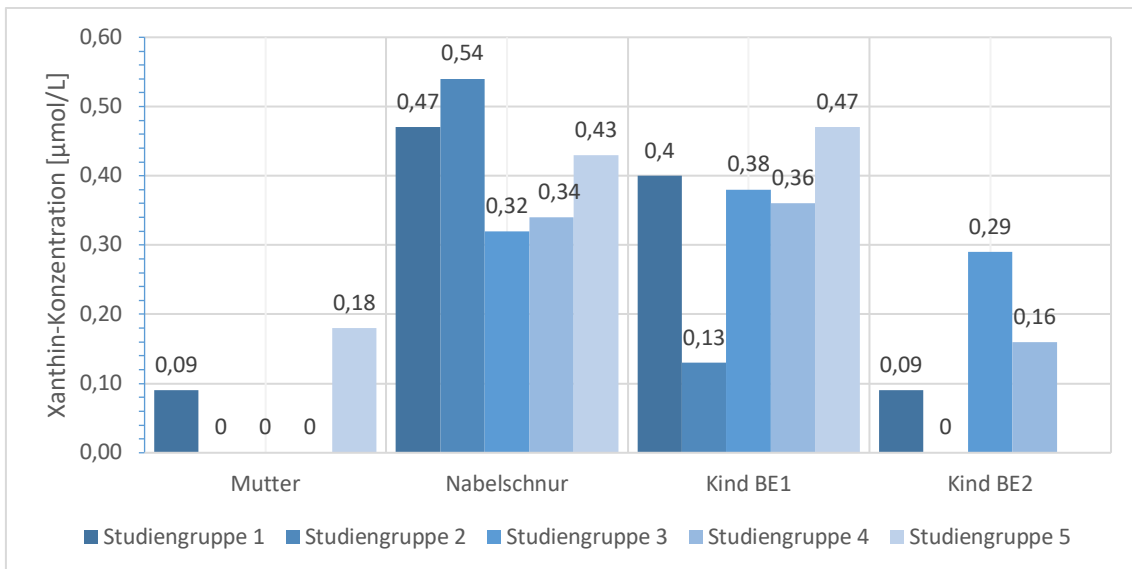


Abbildung 30: Median der Xanthin-Konzentration [µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.

Die in dieser Studie ermittelten Inosin-Konzentrationen in den Blutplasmaproben der NS, der Mütter und der Kinder innerhalb der Studiengruppen ergibt die in Abbildung 31 dargestellten Boxplots bzw. Balkendiagramme der Mediane (Abbildung32).

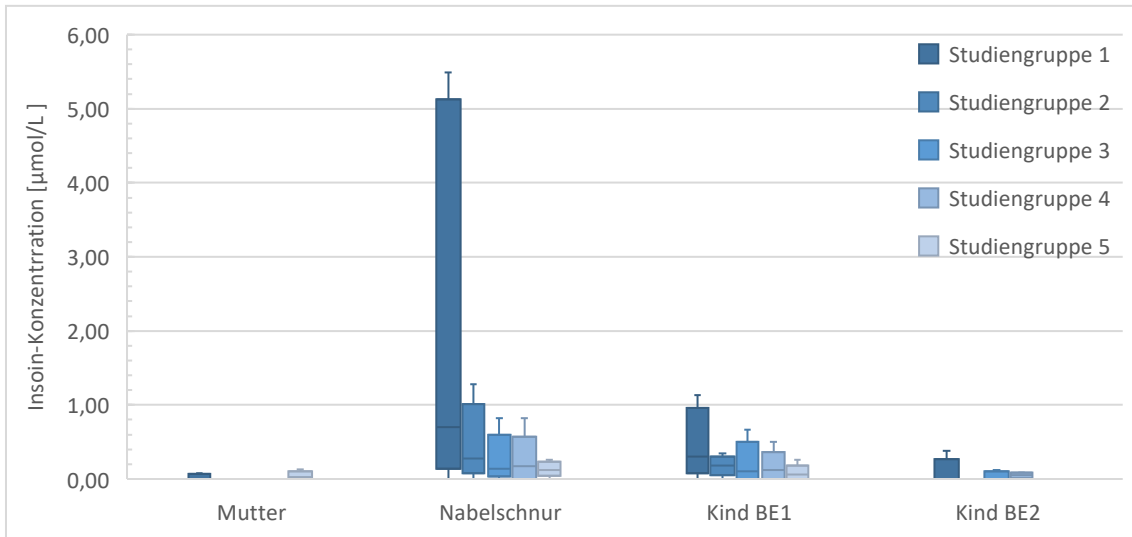


Abbildung 31: Boxplots der Inosin-Konzentration[µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen. Dargestellt sind Minimum, Maximum, Interquartilsabstand sowie die Mediane.

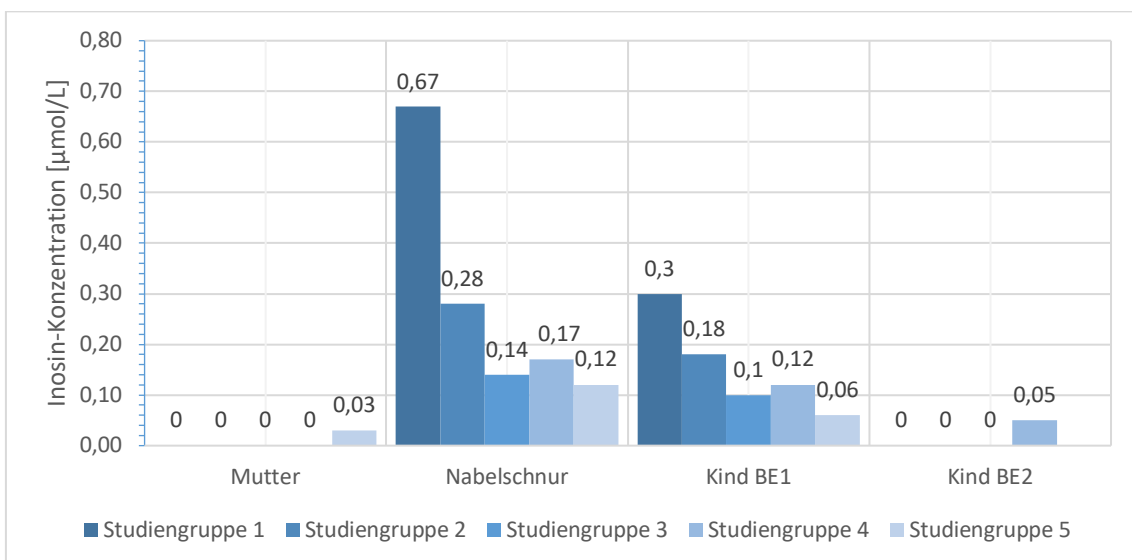


Abbildung 32: Median der Inosin-Konzentration [µmol/L] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.

Die Boxplots der ermittelten AMP-Konzentrationen im mütterlichen, und kindlichen Blutplasma sowie in den NS-Plasmaproben in Abhängigkeit der Studiengruppen sind in Abbildung 33 dargestellt. Die Balkendiagramme der Mediane der Uridin-Konzentration sind in Abbildung 34 dargestellt.

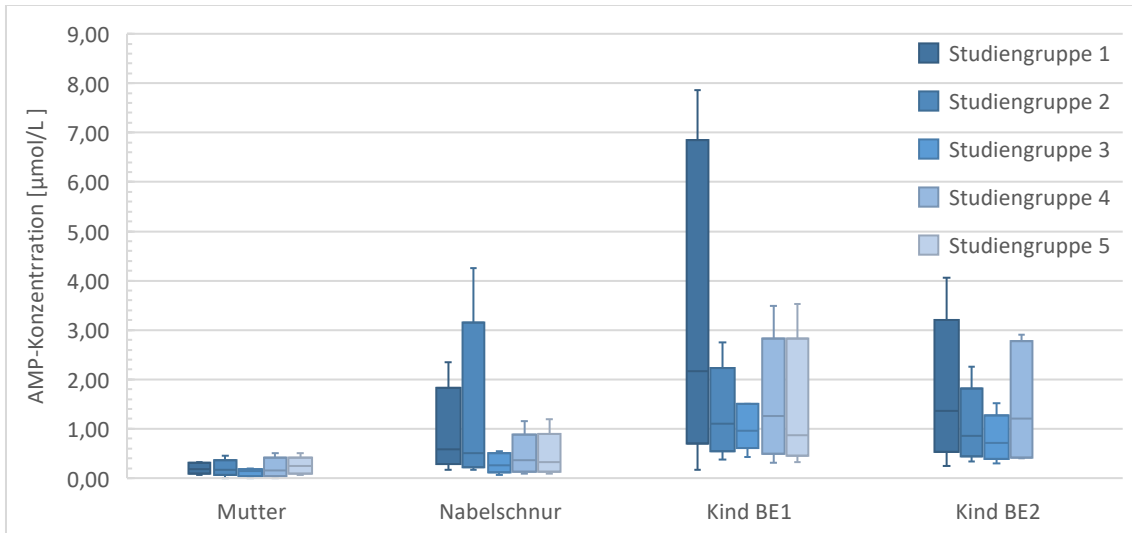


Abbildung 33: Boxplots der AMP-Konzentration[$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen. Dargestellt sind Minimum, Maximum, Interquartilsabstand sowie die Mediane.

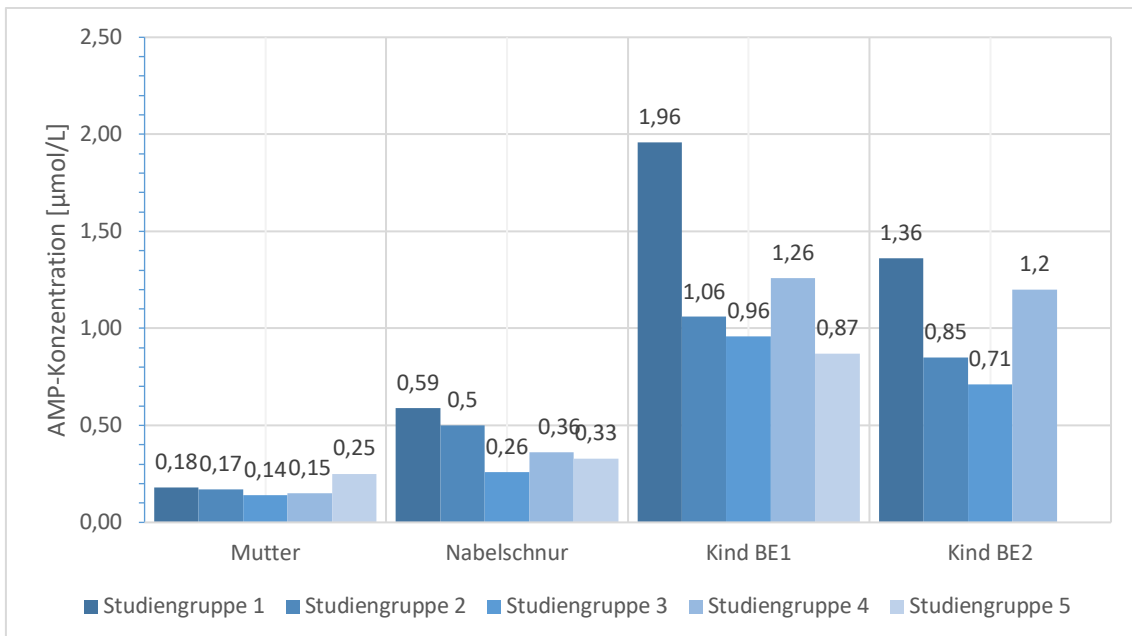


Abbildung 34: Median der AMP-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] in den Blutplasmaproben der Mutter, Nabelschnur und Kind unterteilt nach den einzelnen Studiengruppen.

Tabelle 26: Statistische Auswertung der Konzentrationsunterschiede zwischen den Plasmaproben der Mütter, NS und der Kinder innerhalb der jeweiligen Studiengruppen.

Abkürzungen: 25 % = 25. Quantile, 75 % = 75. Quantile, Max. = Maximum, Min. = Minimum, MW = Messwert, NS = Nabelschnur, NWG = Nachweisgrenze.

Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	Studiengruppen										INSG.	
		1		2		3		4		5		Z	p
		Z	p	Z	p	Z	p	Z	p	Z	P	Z	p
Analyse von 244-Cytidin													
NS	Mutter	5,57	<,0001	5,47	<,0001	5,32	<,0001	1,90	0,3474	0,63	1,0000	9,42	<,0001
NS	Kind BE1	3,23	0,0074	2,50	0,0738	2,19	0,1711	-0,09	1,0000	1,00	0,9463	4,42	<,0001
NS	Kind BE2	4,79	<,0001	4,15	0,0002	2,09	0,2207	1,38	1,0000			5,08	<,0001
Kind BE1	Mutter	2,56	0,0635	3,10	0,0117	3,31	0,0056	3,64	0,0016	-0,35	1,0000	5,24	<,0001
Kind BE1	Kind BE2	1,67	0,5681	1,73	0,5056	0,33	1,0000	-0,75	1,0000			1,65	0,099
Kind BE2	Mutter	0,91	1,0000	1,37	1,0000	2,39	0,1007	2,32	0,1234			2,76	0,035
Analyse von 245-Uridin													
NS	Mutter	4,30	0,0001	3,44	0,0035	3,50	0,0027	4,90	0,0003	1,75	0,2380	7,97	<,0001
NS	Kind BE1	-1,09	1,0000	-0,72	1,0000	-3,18	0,0089	-2,01	0,2689	-3,62	0,0009	-4,54	<,0001
NS	Kind BE2	-0,14	1,0000	0,82	1,0000	-1,91	0,3400	-0,59	1,0000			-2,40	0,099
Kind BE1	Mutter	5,27	<,0001	5,033	<,0001	6,50	<,0001	5,95	<,0001	5,31	<,0001	12,27	<,0001
Kind BE1	Kind BE2	0,89	1,0000	1,54	0,7446	0,64	1,0000	0,34	1,0000			1,53	0,125
Kind BE2	Mutter	4,26	0,0001	4,30	0,0001	4,72	<,0001	2,61	0,0543			8,79	<,0001
Analyse von 137-Hypoxanthin													
NS	Mutter	6,96	<,0001	7,95	<,0001	7,21	<,0001	7,00	<,0001	4,58	<,0001	14,94	<,0001
NS	Kind BE1	2,04	0,2465	2,37	0,1080	0,91	1,0000	1,24	1,0000	0,66	1,0000	3,34	0,0051
NS	Kind BE2	4,45	<,0001	5,29	<,0001	2,87	0,0250	2,42	0,0932			7,63	<,0001
Kind BE1	Mutter	5,03	<,0001	5,73	<,0001	6,40	<,0001	5,78	<,0001	3,93	0,0003	11,78	<,0001

Fortsetzung Tabelle 26: Statistische Auswertung der Konzentrationsunterschiede zwischen den Plasmaproben der Mütter, NS und der Kinder innerhalb der jeweiligen Studiengruppen.

Abkürzungen: 25 % = 25. Quantile, 75 % = 75. Quantile, Max. = Maximum, Min. = Minimum, MW = Messwert, NS = Nabelschnur, NWG = Nachweisgrenze

Analyse von 137-Hypoxanthin		Studiengruppen										INSG.	
Referenzgruppe	Vergleichsgruppe	1		2		3		4		5		Z	p
		Z	p	Z	p	Z	p	Z	p	Z	P		
Kind BE1	Kind BE2	2,46	0,0824	3,01	0,0158	2,14	0,1918	1,82	0,4086			6,51	<,0001
Kind BE2	Mutter	2,56	0,0628	2,71	0,0402	3,21	0,0080	1,07	1,0000			4,79	<,0001
Analyse von 153-Xanthin													
NS	Mutter	4,56	<,0001	5,18	<,0001	4,48	<,0001	3,14	0,0101	4,39	<,0001	9,25	<,0001
NS	Kind BE1	1,10	1,0000	1,54	0,7460	- 0,16	1,0000	- 0,26	1,0000	-0,71	1,0000	1,32	1,000
NS	Kind BE2	3,77	0,0010	4,16	0,0002	0,97	1,0000	0,90	1,0000			5,45	<,0001
Kind BE1	Mutter	3,51	0,0027	2,62	0,0526	4,29	0,0001	2,91	0,0217	5,10	<,0001	7,99	<,0001
Kind BE1	Kind BE2	2,69	0,0430	2,70	0,0413	0,83	1,0000	0,77	1,0000			4,55	<,0001
Kind BE2	Mutter	0,89	1,0000	1,08	1,0000	2,75	0,0363	0,66	1,0000			2,25	0,146
Analyse von 269-Inosin													
NS	Mutter	6,23	<,0001	6,44	<,0001	5,55	<,0001	5,03	<,0001	4,85	<,0001	12,07	<,0001
NS	Kind BE1	1,80	0,4268	1,61	0,6465	1,14	1,0000	1,22	1,0000	3,54	0,0012	3,35	<,0001
NS	Kind BE2	5,21	<,0001	5,94	<,0001	2,86	0,0253	1,53	0,7588			8,21	<,0001
Kind BE1	Mutter	4,52	<,0001	4,93	<,0001	4,52	<,0001	3,84	0,0007	1,38	0,5069	8,89	<,0001
Kind BE1	Kind BE2	3,4	0,0034	4,41	<,0001	1,96	0,3026	0,95	1,0000			5,61	<,0001
Kind BE2	Mutter	1,16	1,0000	0,60	1,0000	1,84	0,3913	0,97	1,0000			1,89	0,353
Analyse von 348-AMP													
NS	Mutter	3,50	0,0028	1,63	0,6219	3,10	0,0118	1,75	0,4816	1,82	0,2052	6,86	<,0001
NS	Kind BE1	- 3,54	0,0024	-4,56	<,0001	-4,27	0,0001	-4,21	0,0002	-4,36	<,0001	-7,94	<,0001
NS	Kind BE2	-1,88	0,3615	-0,73	1,0000	-2,42	0,0926	-2,69	0,042			-5,02	<,0001
Kind BE1	Mutter	6,73	<,0001	6,17	<,0001	7,11	<,0001	6,62	<,0001	6,11	<,0001	14,38	<,0001
Kind BE1	Kind BE2	1,47	0,8558	0,86	1,0000	1,0	1,0000	0,23	1,0000			2,06	0,0391
Kind BE2	Mutter	5,13	<,0001	5,19	<,0001	4,88	<,0001	3,06	0,0133			10,43	<,0001

3.4.3 Korrelation der Konzentration ausgewählter Purine und Pyrimidine zwischen den mütterlichen Plasmaproben und den Konzentrationen in den Nabelschnur- bzw. kindlichen Plasmaproben

Zur Prüfung eines etwaigen Zusammenhangs der Konzentration ausgewählter Purine und Pyrimidine zwischen den mütterlichen Plasmaproben und den NS-Plasmaproben bzw. kindlichen Plasmaproben, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Hierbei ergab sich lediglich für das Nukleosid Uridin ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Konzentrationen der mütterlichen Blutproben und den NS-Plasmaproben aller Studiengruppen (Spearmankoeffizient $\rho=0,1903$, $p=0,0358$).

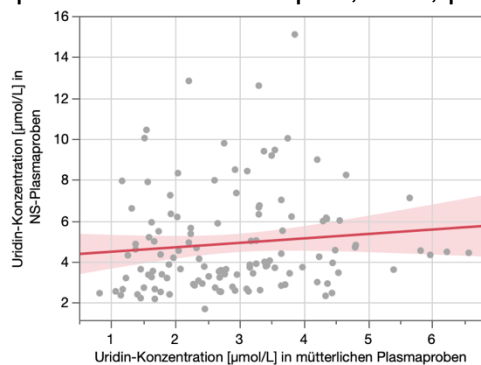


Abbildung 35: Uridin-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] Korrelation zwischen den Plasmaproben der Mütter und den NS-Proben.

Dargestellt sind Einzelwerte ($N=272$) und die Anpassungslinie.

Für alle weiteren nachweisbaren Purine/Pyrimidine ergab sich keine Korrelation zwischen den jeweiligen Konzentrationen im mütterlichen Plasma und dem NS-Plasma, bzw. dem Plasma der Früh- und Reifgeborenen zu BE1 oder BE2.

Tabelle 27: Korrelationsanalyse der Plasmakonzentration ausgewählter Purine/Pyrimidine zwischen mütterlichen Plasmaproben und Nabelschnur- bzw. kindlichen Plasmaproben.

Purine	Mutter – NS		Mutter – BE1		Mutter – BE2	
	Spearman ρ	p-Wert	Spearman ρ	p-Wert	Spearman ρ	p-Wert
Cytidin	-0,005	0,958	0,0120	0,836	-0,119	0,327
Uridin	0,190	0,036	-0,111	0,225	-0,028	0,817
Pyrimidine						
Hypoxanthin	0,049	0,602	-0,023	0,799	-0,033	0,788
Xanthin	0,169	0,062	-0,083	0,362	0,003	0,980
Inosin	0,042	0,649	-0,145	0,113	-0,129	0,290
AMP	0,090	0,324	0,038	0,676	0,038	0,762

3.5 Korrelation der Konzentration ausgewählter Purine und Pyrimidine im Nabelschnurplasma mit dem pH-Wert

In der Vergangenheit wurde in der Literatur eine Korrelation zwischen Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen, insbesondere der Hypoxanthin-Konzentration, und dem pH-Wert im arteriellen Nabelschnurblut beschrieben. Zur Klärung dieser Frage wurde mit den in dieser Studie ermittelten Purin-/Pyrimidin-Konzentrationen eine Korrelationsanalyse mit dem postnatal gemessenen, arteriellen pH-Wert aus der NS durchgeführt.

Für das Nukleosid Xanthin (Spearmankoeffizient $\rho = -0,1793$, $p = 0,0297$) und das Nukleomonophosphat TMP (Spearmankoeffizient $\rho = -0,1748$, $p = 0,0342$) wurde eine signifikante negative Korrelation ρ nach Spearman mit dem pH-Wert ermittelt. Bei den anderen hier untersuchten Purinen/Pyrimidinen ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zum arteriellen pH-Wert in den NS-Proben herstellen.

Tabelle 28: Korrelation ausgewählter Purin-/Pyrimidin-Konzentrationen mit dem pH-Wert in der Nabelarterie.

Abkürzungen: NapH-Wert = arterieller Nabelschnur-pH-Wert

Pyrimidine Korrelationsanalyse mit NapH-Wert			Purine Korrelationsanalyse mit NapH-Wert		
	Spearman-Koeffizient ρ	p-Wert		Spearman-koeffizient ρ	p-Wert
Cytosin	- 0,0594	0,4748	Adenin	0,1155	0,1635
Cytidin	0,0896	0,2807	Adenosin	- 0,0582	0,4836
CMP	- 0,0712	0,3913	AMP	0,0392	0,6376
Uracil	- 0,0989	0,2334	Guanin	0,0152	0,8555
Uridin	- 0,1208	0,1448	Guanosin	- 0,0167	0,8405
UMP	0,0443	0,5943	GMP	- 0,0702	0,3980
Thymin	0,0143	0,8634	Hypoxanthin	- 0,1033	0,2133
TMP	- 0,1748	0,0342	Inosin	0,0024	0,9765
			IMP	0,0134	0,8719
			Xanthin	- 0,1793	0,0297

4 Diskussion

4.1 Aktualität der Fragestellung

Als einer der wichtigsten Fortschritte der neonatalen Intensivmedizin gilt das individuelle Ernährungsmanagement (Delnord & Zeitlin, 2019) als entscheidende Stellschraube bei der Behandlung FG. Die besondere Situation dieser ist durch einen hohen Nährstoffbedarf, bei geringen Nahrungsreserven gekennzeichnet. Um ein Wachstum entsprechend der intrauterinen Wachstumskurven (Fusch et al., 2009; Koletzko et al., 2007) zu erreichen und damit in Konsequenz die Entstehung akuter wie chronischer Krankheitsverläufe und Komplikationen als Folge der Frühgeburtlichkeit zu verhindern (Bonnar & Fraser, 2019; Ehrenkranz et al., 2006; Franz et al., 2009; Gianni et al., 2012), ist es bis heute Stand aktueller Forschung den Nährstoffbedarf diverser Mikronährstoffe im Detail zu quantifizieren.

Nukleotide und Nukleoside als Mikronährstoff spielen eine Schlüsselrolle in zahlreichen intrazellulären biochemischen Prozessen und sind dadurch für die Funktion des lebenden Körpers wesentlich (Cosgrove, 1998). Intrauterin gelangen sie nach aktuellem Forschungsstand über plazentare Zellen passiv durch Diffusion oder aktiv durch spezifische Transporter in den fetalen Kreislauf (Griffiths et al., 1997). Ein Abbruch dieser Versorgung durch eine frühzeitige Geburt wirft die Frage der Bedürftigkeit einer Substitution in der Ernährung FG auf. In diversen in-vitro Studien und Tierexperimenten wurde der positive Effekt einer mit Nukleotiden angereicherten Nahrung auf die Darmflora und -entwicklung, das Immunsystem, die Eisenaufnahme und -absorption sowie den Fettstoffwechsel von Säuglingen beschrieben (Lerner & Shamir, 2000). Daraufhin kündigten zwar mehrere Hersteller von Säuglingsnahrung den Zusatz von Nukleotiden zu ihren Produkten an, die Studien, die den Nutzen bei menschlichen Säuglingen bestätigten, sind jedoch bis heute wenige (Cosgrove, 1998). Zusammenfassend scheint zwar der positive Effekt einer mit Nukleotiden angereicherten Nahrung als bewiesen zu gelten. Die aktuelle Studienlage bezüglich genauer Konzentrationen, Zusammensetzung, etwaiger Nebenwirkungen, sowie deren Bioverfügbarkeit in der MM oder Formula-

Nahrung, bleibt jedoch bis heute unzureichend und angesichts einer weltweit steigenden Frühgeborenen-Prävalenz extremer FG von 65% (Schleußner, 2013) und dem damit verbundenen Bedarf an ernährungsphysiologischen Erkenntnissen jedoch nicht an Aktualität zu verlieren.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Diese Beobachtungsstudie hatte zum Ziel, die physiologische Konzentrationen ausgewählter Purine und Pyrimidine, einschließlich deren Derivate und Monophosphate im Plasma Früh- und Neugeborener im postnatalen Alter von der 23. – 42. SSW sowie in Plasmaproben der Nabelschnur und der Mütter, zu bestimmen.

Diverse Studien bestätigten einen allgemein erhöhten Nährstoffbedarf FG gegenüber reifgeborenen Kindern (Arslanoglu et al., 2019; Ziegler, 2011, 2014). Um diese Frage bezüglich Purinen/Pyrimidinen beantworten zu können, wurden die in dieser Studie ermittelten Blutplasma-Konzentrationen in Abhängigkeit des Gestationsalters betrachtet. Aufschluss über die postnatale Nährstoffversorgung mit Purinen und Pyrimidinen stationär behandelter FG liefern des Weiteren die in dieser Studie ermittelten Plasma-Konzentrationen der Kinder 14 Tagen postnatal.

Damit sollen die Ergebnisse einen Beitrag leisten die intrauterine und postnatale Versorgung mit konditionell-essenziellen Mikronährstoffen wie den Purinbasen/-derivaten und Pyrimidinbasen/-derivaten zu quantifizieren. Zudem galt zu prüfen ob sich aus den ermittelten Konzentrationsverläufen evtl. Hinweise ableiten lassen, die auf eine unzureichende Versorgung mit Mikronährstoffen wie Purine und Pyrimidine der Kinder nach vorzeitiger Umstellung von diaplazentarer auf enterale Ernährung hindeuten.

4.2.1 *Massenspektrometrische Bestimmung der Konzentrationen*

Die mittels Elektrosprayionsations-Tandemmassenspektrometrie (ESI-MS/MS) erfolgte Konzentrations-Bestimmung umfasste 19 Nukleotide/-side. Die minimal detektierbaren Konzentrationen wurden mittels der im Anhang beigefügten Eichkurven ermittelt und lagen in dieser Studie überwiegend zwischen 0,01 µmol/L und 0,1 µmol/L. Da es zwar für vereinzelte Nukleotide Referenzwerte gibt,

können diese mit den hier beobachteten Konzentrationen verglichen werden, eine vergleichbare Gegenüberstellung zu allen in dieser Studie gemessenen Purin- und Pyrimidinkonzentrationen ist aufgrund der mangelnden Datenlage jedoch nicht möglich.

4.2.1.1 Konzentrationen in der NS, der Mutter und den kindlichen Blutentnahmen

Während in der NS für acht Nukleotide/-side in mindestens einer Studiengruppe ein Median über der NWG ermittelt werden konnte, waren es im mütterlichen Blut sechs, in den kindlichen Plasmaproben sogar zehn (BE1 nach max 72h postnatal) und neun (BE2 nach 14d postnatal) Purine/Pyrimidine. Die höchste in dieser Studie ermittelten Konzentration wurde für die Purinbase Hypoxanthin in den NS-Plasmaproben und im Plasma der ersten BE der Kinder nachgewiesen. In den mütterlichen Plasmaproben und dem kindlichen Plasma der zweiten BE hatte Uridin die höchste Konzentration unter den Mikronährstoffen.

Die Pyrimidine 1. Cytosin, 2. Uracil, 3. Thymin, 4. Thymidin, 5. UMP, 6. TMP sowie die Purine 7. Adenin, 8. Guanosin, 9. IMP wiesen in keiner in dieser Studie analysierten Plasmaproben, Konzentrationen über der NWG auf.

1. Cytidin, 2. Uridin 3. Hypoxanthin, 4. Xanthin, 5. Inosin und 6. AMP konnten in > 80% der Plasmaproben der Nabelschnur, der Mütter und der Kinder mit einem Median über der NWG detektiert werden. Dabei wurde der höchste Median innerhalb aller Purine/Pyrimidine dieser Studie für die Purinbase Hypoxanthin mit 17,70µmol/L in der NS der Studiengruppe 1 der extrem frühgeborenen Kinder, gemessen. Die höchste Uridin-Konzentration wurde ebenfalls in Studiengruppe 1 in den Plasmaproben der ersten BE der Kinder bei 6,70µmol/L ermittelt.

4.2.1.2 Pyrimidine und Purine – Nachweisgrenze, Zusammensetzung und Bedeutung für den Stoffwechsel.

Cytosin und CMP wiesen in den hier ermittelten Konzentrationen einen Gesamtmedian <NWG auf. Die Messwerte lagen nur zu 1% bis 17% über der Nachweisgrenze. Mit Ausnahme der mütterlichen Proben (49% MW über NWG,

Median <NWG), wurde das Pyrimidinderivat **Cytidin** zu 60 – 82 % über der NWG detektiert.

Sowohl bei der Pyrimidinbase **Uracil** (89% - 100%) als auch bezüglich des Nukleotids **UMP** (96% - 99%) lag ein großer Teil der Werte unter der NWG. Dabei gilt zu erwähnen, dass insbesondere in Bezug auf das Nukleotid UMP die ermittelte Nachweisgrenze bei 3,0 µmol/L liegt, so dass viele Plasmaproben in der Höhe der Konzentration darunter liegen und damit als nicht nachweisbar gelten. Obwohl die Konzentration vergleichbar mit der anderer Nukleotide/-side sein könnten. Hier erscheint die Messmethodik nicht sensibel genug zu sein (siehe 4.1.3.1). Dagegen wurde das Pyrimidinderivat **Uridin** zu 100% über der Nachweisgrenze detektiert. Uridin konnte in einer Studie, die sich mit der Bedeutung der Pyrimidinbase für den Stoffwechsel von Kindern mit Diabetes Typ 1 auseinandersetzte mit einer Konzentration von 2,95 µmol/L in den Plasmaproben der Kontrollgruppe und 6,10 µmol/L in den Plasmaproben der an Typ1 Diabetes erkrankten Kinder, ermittelt werden (Dudzinska, 2011). Damit sind die in dieser Beobachtungsstudie ermittelten Werte von 6,20µmol/L in den kindlichen Plasmaproben der ersten BE vergleichbar mit den Referenzwerten aus der Studie von Dudzinska (Dudzinska, 2011). Im Vergleich zu allen anderen Mikronährstoffen dieser Studie, bei denen die höchste Konzentration in der NS nachweisbar war, ist es auffallend, dass die Uridin-Konzentration in der erste BE der Kinder am höchsten ist, und dann zwar zur zweiten BE abfällt, jedoch immer noch höher als zum Zeitpunkt der Geburt in der NS bleibt. Ob ein Zusammenhang zwischen einer hyperglykämien Stoffwechsellage von Kindern nach der Geburt und der hohen Uridin-Konzentration bestehen könnte, bleibt zukünftig zu klären.

Die Gesamtmediane bezogen auf die Base **Thymin**, deren Derivat **Thymidin** und deren Nukleotid **TMP** liegen alle <NWG. Mit 1% bis 6% der Werte über der Nachweisgrenze sind sie die am wenigsten nachweisbaren Purine/Primidine in allen Proben dieser Studie.

In diversen Studien weltweit., die die Nukleotid-Konzentration in der MM bestimmten, konnten zwar ebenfalls zum großen Teil Cytidin und Uridin und

deren Derivate nachgewiesen werden (Hodgkinson et al., 2022). Thymin und dessen Derivate Thymidin und TMP waren hingegen auch hier nicht nachweisbar (Liao et al., 2011; Sugawara, Sato, Nakano, Idota, & Nakajima, 1995; Yang et al., 2022). In den Studien sind die einzelnen NWG der Standard-Nukleotide und -side leider nicht angegeben, weswegen ein Vergleich zu den in unserer Studie ermittelten NWG nicht möglich ist.

Die Purinbase **Adenin** liegt zu 23 % aller untersuchten Proben über der NWG. Für das Purinderivat **Adenosin** wurden bei 16 % der mütterlichen Plasmaproben und 31% der NS-Plasmaproben, Messwerte über der NWG ermittelt. Die Ausnahme stellen hier die kindlichen Blutproben dar. In der ersten postnatalen BE wurden über die Hälfte der Werte (58%) über der NWG ermittelt. Adenosin gilt als starker Vasodilatator und hat in Interaktion mit Katecholaminen einen positiven Effekt auf die Kontraktilität des Myokards (Arch & Newsholme, 1978; Schrader, Baumann, & Gerlach, 1977). Diese Tatsache könnte ein Grund für die signifikant höheren ($p < ,0001$) Werte in den kindlichen Blutproben sein.

Die **AMP-Konzentrationen** lagen alle über der Nachweisgrenze. AMP übernimmt mehrere wichtige Positionen im Stoffwechsel eines Organismus. Als Bestandteil der RNA hat AMP eine entscheidende Rolle an der Umsetzung genetischer Informationen aus der DNA in Protein. Durch Phosphatanlagerung dient es dem Körper als ADP und ATP einerseits als Energietransporter, andererseits spielt es eine Rolle bei der Aktivierung und Aggregation von Thrombozyten. Als cAMP fungiert es als Second Messenger bei der zellulären Signaltransduktion. All dies macht es nicht verwunderlich, dass AMP in allen Proben detektiert werden konnte. Ob die Konzentration dagegen für FG ausreichend ist, bleibt zu klären.

Guanin und **Guanosin** wiesen zwischen 3% (BE2) und 23 % (BE1) Werte über der NWG auf. Der Median lag nicht über der NWG. Bei dem Monophosphat **GMP** wurden einzig in der ersten BE der Kinder 59% der Werte mit einem Gesamtmedian von 0,05 $\mu\text{mol/L}$ ermittelt. In der zweiten BE nach zwei Wochen stationärem Aufenthalt lag die Nachweisrate noch bei lediglich 3% aller kindlichen Plasmaproben.

Die **Hypoxanthin-Konzentration** lag bei den NS-Proben sowie bei den postnatalen Blutproben, jedoch nicht bei den mütterlichen Proben, zu 100% über der NWG und hatte im NS-Plasma (Median 12,20 $\mu\text{mol/L}$) und der ersten BE der Kinder (Median 8,42 $\mu\text{mol/L}$) die höchste Konzentration unter allen in dieser Studie analysierten Purinen/Pyrimidinen. In einer Studie (Lipp-Zwahlen, Tuschmid, Silberschmidt, & Duc, 1983), welche die Purinbase als Parameter für die Bestimmung einer Azidose unter Geburt heranzog, wurde ein Mittelwert von $16,1 \pm 5,7 \mu\text{mol/L}$ im arteriellen Nabelschnurblut reifer Neugeborener ohne klinische Anzeichen einer Hypoxie, ermittelt. Die Ähnlichkeit der Ergebnisse der vorliegenden Studie und dieser Beobachtungsstudie spricht primär für die Aussagekraft der in dieser Studie ermittelten Konzentrationen. Hypoxanthin ist als Base des Nukleosids Inosin, einerseits als Bestandteil der TransferRNA an der Proteinbiosynthese beteiligt. Andererseits ist es ein entscheidender Bestandteil des Enzyms Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase (HGPRT) und damit des Salvage-Pathways. Dieser Stoffwechselweg ermöglicht durch Umgehung der de-novo-Synthese eine energiearme Wiederherstellung der RNA-/DNA-Bestandteile AMP und GMP über die Ausgangsverbindung IMP. Im Rahmen des Purinabbaus kommt Hypoxanthin als Einzelbase vor und wird zu Xanthin abgebaut.

Die Werte des Nukleosids **Xanthins** in dieser Studie lagen zu 39% (Mütter) bis zu 81% (NS) über der NWG. Xanthin wird durch die Xanthinoxidase im Rahmen des Purinabbaus in Harnsäure umgewandelt. In der Vergangenheit wurden Studien zum Zusammenhang der Harnsäure-Konzentration als Abbauprodukt der Purinbasen, und einem erhöhten Blutdruck sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern (Scheepers et al., 2017) publiziert. Zu diesem Zweck wurde ein Median der Xanthinkonzentration von 0,53 $\mu\text{mol/L}$ in der Population von mehreren hundert Schulkindern ermittelt (Scheepers et al., 2017). Mit einem Median von 0,41 $\mu\text{mol/L}$ im Plasma der NS und 0,37 $\mu\text{mol/L}$ in den postnatalen Proben der Kinder zur ersten BE unterschieden sich die in dieser Studie ermittelten Konzentrationen kaum von denen der Studie von Scheepers et al.

Das Hauptanliegen eines Großteils der in der Vergangenheit stattgefundenen Analysen zur Bestimmung der Plasmakonzentration von Nukleosiden und

Nukleotiden bestand darin, Purine und Pyrimidine als korrelierenden Parameter einer pathologischen fetalen Azidose heranzuführen und damit ein Diagnostikum einer perinatalen Hypoxämie zu etablieren (Graham, Ruis, Hartman, Northington, & Fox, 2008; Lipp-Zwahlen et al., 1983; O'Connor, Harkness, Simmonds, & Hytten, 1981b; Porter, O'Brien, & Benoit, 1992). Bei Hypoxie und Ischämie greifen Zellen auf den Abbau energiereicher Purine zurück. Während einige Studien eine klare Korrelation zwischen der Purin-/Pyrimidinkonzentration und dem pH-Wert beschrieben (Lipp-Zwahlen et al., 1983; Mateos Antón et al., 1989), konnten andere (O'Connor, Harkness, Simmonds, & Hytten, 1981a) keinen signifikanten Zusammenhang nachweisen. In dieser Beobachtungsstudie kann diese Hypothese einzig für die Purinbase Xanthin bestätigt werden. Eine hohe Xanthin-Konzentration in der NS korrelierte signifikant negativ mit dem pH-Wert (Spearman $\rho = -0,1793$, p-Wert = 0,0297). Dieser Zusammenhang wurde bereits sowohl in Beobachtungsstudien als auch in einem Tierexperiment (Kjellmer, Andiné, Hagberg, & Thiringer, 1989) als Reaktion auf hypoxische Zustände intrauterin und unter der Geburt beschrieben. In dieser Untersuchung war der Zusammenhang jedoch recht schwach.

4.2.1.3 Auswahl der Mikronährstoffe zur weiteren Analyse

Insgesamt wurden sechs der insgesamt 19 Mikronährstoffe zur weiteren Analyse ausgewählt: Die Pyrimidinderivate Cytidin (Gesamtmedian 0,11 $\mu\text{mol/L}$) und Uridin (4,48 $\mu\text{mol/L}$), die Purinbasen Hypoxanthin (7,18 $\mu\text{mol/L}$), Xanthin (0,26 $\mu\text{mol/L}$), das Purinderivat Inosin (0,08 $\mu\text{mol/L}$) und das Nukleomonophosphat AMP (0,55 $\mu\text{mol/L}$).

Die Auswahl fand über die Anzahl der Messwerte über der NWG statt. Waren in einer Gruppe mehr als 80% der Messwerte über der Nachweisgrenze messbar, wurde der Mikronährstoff für weitere Vergleiche herangezogen. Diese Entscheidung erscheint aufgrund der eingeschränkten Vergleichbarkeit von Ergebnissen, die in einigen Gruppen zum Großteil unter der NWG lagen, folgerichtig und erhöht die Aussagekraft der weiteren Analysen. Trotzdem bleibt zu klären, ob eine weitere Anpassung der Methodik unter Reduzierung der NWG die Interpretation der Befunde verändern würde (4.3.1).

4.3 Diskussion der Fragestellung

4.3.1 *Ist die Plasmakonzentration ausgewählter Purine/Pyrimidine in den mütterlichen Proben unterschiedlich zu der Konzentration im Nabelschnur-Plasma und sind diese vom Gestationsalter abhängig?*

Die Nabelschnurkonzentration der ausgewählten Purine/Pyrimidine korreliert, mit Ausnahme von Xanthin, negativ mit dem Gestationsalter. Das heißt, mit steigender SSW zum Zeitpunkt der Entbindung, nimmt die Purin- und Pyrimidinkonzentration (Cytidin, Uridin, Hypoxanthin, Inosin, AMP) in den NS-Proben ab. Dabei korreliert einzig die NS-Konzentration von Xanthin signifikant negativ mit dem pH-Wert. Es besteht zwar auch ein schwacher Zusammenhang zum Gestationsalter (Spearman $\rho = -0,1261$), jedoch könnte die Korrelation zum pH-Wert ($p = 0,124$) möglicherweise den Zusammenhang zum Gestationsalter abschwächen und zu einem nicht signifikanten Ergebnis führen.

Für alle anderen Purine/Pyrimidine (Cytidin, Uridin, Hypoxanthin, Inosin, AMP) kann festgehalten werden, dass die Konzentration im NS-Plasma der extrem FG (Studiengruppe 1), signifikant höher ($p > 0,0001$) ist als im Plasma der reifgeborenen Probanden (Studiengruppe 5) dieser Studie. Der Unterschied bleibt bis zur 34. SSW (Studiengruppe 3) bestehen, ist jedoch abnehmend, bis zwischen der 35. SSW und der Gruppe der Reifgeborenen (5) die Purin-/Pyrimidin-Konzentration im NS-Plasma annähernd gleich ist. Dieser Zusammenhang könnte auf einen aktiven diaplazentaren Transport zur Deckung eines erhöhten Bedarfs der FG hindeuten. Der Abfall der Nährstoffkonzentrationen bereits 72 Stunden postnatal (4.1.2.2) könnte schlussfolgernd aus dem hohen Bedarf auf eine mangelnde Zufuhr über die Nahrung (teilparenteral/enteral) im stationären Rahmen hindeuten. Auf persönliche Nachfrage bei der Nestlé Nutrition GmbH konnten wir zwar den Gesamtnukleotidgehalt (Tabelle 2), nicht jedoch die genaue Nukleotid-Zusammensetzung in Erfahrung bringen. Dies könnte für eine weitere Diskussion der Fragestellung durchaus wegweisend sein.

Die Mikronährstoffkonzentration von Cytidin (Spearman $\rho = 0,19$, $p = 0,039$), und Inosin (Spearman $\rho = 0,3209$, $p = 0,0003$) im mütterlichen Plasma nimmt mit

steigendem Gestationsalter signifikant zu. Insbesondere für die Pyrimidine Hypoxanthin, Xanthin und Inosin wurde im Vergleich aller Studiengruppen zur Gruppe der Reifgeborenen (5) eine signifikant niedrigere Konzentration im Plasma der Mütter der Frühgeborenen nachgewiesen.

Ob niedrige Purin-/Pyrimidin-Konzentrationen im mütterlichen Blut mit Frühgeburtlichkeit assoziiert sein könnten, und eine mütterliche Substitution sinnvoll wäre, bleibt weiterführend zu prüfen.

Intrauterin gelangen mütterliche Nukleotide und Nukleoside über plazentare Zellen in den fetalen Kreislauf. Bis zum Abbruch der plazentaren Versorgung durch die Geburt ist davon auszugehen, dass diaplazentar eine gewisse Nährstoffversorgung der Feten gewährleistet ist.

Eine alternative Erklärung wäre, in Anbetracht der in dieser Studie ermittelten, niedrigeren Purin-/Pyrimidinkonzentrationen im Blut der Mütter von FG im Vergleich zu höheren Konzentrationen im NS-Blut, dass der nachweislich höhere Nährstoffbedarf von FG im Vergleich zu Reifgeborenen (Koletzko et al., 2007) intrauterin über die Mutter gedeckt werden kann. Die Konsequenz aus dieser Überlegung wäre eine signifikant niedrigere Purin-/Pyrimidinkonzentration in den mütterlichen Plasmaproben im Vergleich zum NS-Plasma, wie es die Ergebnisse dieser Studie ergaben. Durch eine Frühgeburt wäre diese, auf die genauen Bedürfnisse der FG abgestimmte Versorgung, zu früh beendet. Es bleibt die Frage, ob eine adäquate Nährstoffversorgung von extern gewährleistet werden könnte. Hierfür könnten die, dieser Studie anschließenden Analysen der MM-Proben sowie die genaue Nucleotid-Zusammensetzung der zur enteralen Ernährung hinzugezogenen Produkte, weitere Erkenntnisse liefern.

4.3.2 Gibt es Unterschiede zwischen der Purin-/Pyrimidin-Konzentrationen der NS-Plasmaproben und den kindlichen Blutproben 72 Stunden postnatal in Abhängigkeit vom Gestationsalter?

Zwischen der Entnahme aus der NS und der ersten BE bei den Kindern lagen maximal 72 Stunden. Nach dieser Zeit waren die ermittelten Purin-/Pyrimidin-Konzentrationen im Blut der Kinder, mit zwei Ausnahmen (1. Hypoxanthin, 2. Xanthin) bereits signifikant niedriger ($p < 0,0001$) als zum Zeitpunkt der Geburt in

den NS-Proben. Die Konzentration in der NS lässt Rückschlüsse auf die intrauterine Nährstoffversorgung der Früh- und Neugeborenen zu.

Der in dieser Studie ermittelte Konzentrationsabfall bereits kurze Zeit nach dem Abbruch der intrauterinen Versorgung durch die Plazenta war dabei für vier der sechs ausgewählten Purine/Pyrimidine (1. Cytidin, 2. Uridin, 3. Inosin, 4. AMP) bei den extrem FG (Studiengruppe 1) und den sehr frühen Frühgeborenen (Studiengruppe 2) am stärksten, blieb aber bis zur Studiengruppe 4 nachweisbar.

Die Konzentration des Pyrimidinderivats Cytidin fiel innerhalb der ersten 72 Stunden nach der Geburt in der Studiengruppe 1 um 83% (von 0,86µmol/L in der NS auf 0,15µmol/L in der BE1) ab. In der Studiengruppe 2 fiel die Konzentration noch um 49% (um 0,42µmol/L), in der Studiengruppe 4 nur noch um 9% (um 0,08µmol/L) ab.

Für die Purinbase Hypoxanthin lag der Median der Konzentration im Blut der sehr frühen Frühgeburten vor der 31 6/7 SSW (Studiengruppe 2) um 9,36µmol/L niedriger als zum Zeitpunkt der Geburt in den NS-Proben (17,04µmol/L). Dies bedeutet einen Konzentrationsabfall um 55%.

Die Reifgeborenen (Studiengruppe 5) zeigten dagegen für alle ausgewählten Purine/Pyrimidine keinen signifikanten Konzentrationsabfall zwischen dem NS-Blut und der ersten BE. Die Xanthin-Konzentration erhöht sich sogar um 9% (um 0,04µmol/L).

Die zwei Mikronährstoffe, für die dieser Zusammenhang nicht galt, waren das Monophosphat AMP und das Purin Uridin. Die Uridin-Konzentration nahm mit Ausnahme der Studiengruppe 3 von den NS-Proben (Gesamtmedian 4,35 µmol/L) zur ersten BE nach 72 Stunden zu (Gesamtmedian 6,20 µmol/L). Die AMP-Konzentration entsprach dieser Tendenz und zeigte insbesondere in Studiengruppe 1 einen signifikanten Anstieg der Konzentration.

Der Bedarf der FG vor der 31 6/7 SSW an den hier genannten Purinen und Pyrimidinen scheint intrauterin höher zu sein als der Reifgeborener. Durch Abbruch der plazentaren Versorgung durch die vorzeitige Geburt wird sich der Bedarf vermutlich nicht reduzieren. Der Abfall der Plasmakonzentrationen nach

bereits 72 Stunden könnte ein Anhalt sein, dass die bis hierhin ergriffenen Maßnahmen im Ernährungsmanagement dieser FG nicht ausreichen, um den Nährstoffbedarf mit Purinen und Pyrimidinen zu decken. Für AMP und Uridin könnte der Nährstoffgehalt durch einerseits eine hohe Konzentration in der Muttermilch, was zu klären bleibt, und/oder einen hohen Nukleotidgehalt gerade dieser beider Mikronährstoffe in den standardmäßig für die Ernährung FG und NG verwendeten Produkten (Tabelle 2) bereits gedeckt sein. Da wie bereits erwähnt, keine genauen Angaben zur genauen Nukleotid-Zusammensetzung vom Hersteller angegeben sind, bleibt dies spekulativ.

4.3.3 Kindliche Blutproben – ist die Mikronährstoff-Konzentration nach 14

Tagen stationärem Aufenthalt niedriger als zum Zeitpunkt der Geburt?

Weiteren Aufschluss über die postnatale Nährstoffversorgung stationär behandelter FG mit den ausgewählten Mikronährstoffen sollten die Konzentrationsanalysen 14 Tage postnatal liefern.

Vorangegangen war beschrieben worden, dass die Konzentration für vier der sechs ausgewählten Purine/Pyrimidine (1. Cytidin, 2. Hypoxanthin, 3. Xanthin, 4. Inosin) zwischen den NS-Proben, zu denen der ersten BE abfiel. Während sich hier die Tendenz des stärkeren Abfalls in den Studiengruppen 1 und 2 der extrem und sehr früh FG bereits angedeutet hatte, wurde diese nach 14 Tagen stationären Aufenthalts noch deutlicher. Die Konzentration aller hier ausgewählter Mikronährstoffe war nach 14 Tagen stationären Aufenthalts nochmals geringer als nach 72 Stunden in der ersten BE. Dieser Abfall war höher in den Gruppen der sehr frühen und extremen Frühgeborenen (1 und 2). Selbst für Uridin und AMP, die in der ersten BE höhere Konzentrationen als in den NS-Proben aufwiesen, sank die Konzentration nach 14 Tagen im Vergleich zur ersten BE wieder ab.

Die Vergleichslage zwischen der intrauterinen Nährstoffversorgung in der NS und der zweiten BE nach 14 Tagen schien dem gleichen Trend zu folgen; für alle Mikronährstoffe mit den zwei Ausnahmen des Pyrimidinderivats Uridin und des Nukleomonophosphats AMP waren die Konzentrationen nach zwei Wochen stationären Aufenthalts signifikant niedriger ($p < 0,0001$) als zum Zeitpunkt der

Geburt in der NS. Dabei seien auch hier die Unterschiedlichkeiten zwischen den Studiengruppen zu beschreiben. Während die Konzentration der Studiengruppen 1 bis 3 auch zur zweiten BE stärker abnahmen und damit nochmals niedriger als zum Zeitpunkt der Geburt in der NS waren, war der Abfall in der Studiengruppe 4 dagegen geringer. Die Cytidin-Konzentration der Studiengruppe 4 stieg sogar wieder auf $0,28\mu\text{mol/L}$, und damit auf das Niveau in der NS an.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sich sowohl zwischen der ersten und zweiten BE (für 1. Hypoxanthin, 2. Xanthin 3. Inosin) als auch zwischen der zweiten BE und der NS-Proben (für 1. Cytidin, 2. Hypoxanthin, 3. Xanthin, 4. Inosin) ein signifikanter Konzentrationsabfall der ausgewählten Purine/Pyrimidine feststellen ließ. Die Gruppe der extrem unreifen FG (1) dieser Studie wäre 14 Tage später, rechnerisch zwischen der 25. und 29. SSW und würde damit noch in die Gruppe der Studiengruppe 1 oder 2 fallen. Selbst der Vergleich der Werte der zweiten BE der Studiengruppe 1 zu den NS-Konzentrationen der Studiengruppe 2 (28. – 31. SSW) zeigte einen großen Unterschied. Beispielfhaft lag der Median der Cytidin-Konzentration der Studiengruppe 1 bei der zweiten BE unter der NWG und damit $0,64\mu\text{mol/L}$ niedriger als die möglicherweise für dieses Entwicklungsstadium als Referenz anzustrebende NS-Konzentration der Studiengruppe 2.

Diese Zusammenfassung lässt die Vermutung zu: auch nach 14 Tagen stationären Aufenthalts entspricht die Konzentration im Blut der FG mit einer großen Differenz zum NS-Blut möglicherweise nicht deren Bedarf. Damit könnten die Ergebnisse dieser Studie auf einen ungedeckten Bedarf hindeuten. Dies wäre der Versuch einer Erklärung des Benefits einer mit Nukleotiden angereicherten Nahrung (Aggett et al., 2003; Cosgrove, 1998; Yu, 2002) für FG.

4.4 Methodendiskussion

4.4.1 *Messmethodik*

In der dieser Studie vorangegangenen Beobachtungsstudie zur Bestimmung der Konzentration ausgewählter Mikronährstoffe, lag die größte Limitation zur Interpretation der Studienergebnisse in einem hohen Anteil an Messergebnissen unter der NWG (Frische, 2021). Aus diesem Grund wurde die Messmethode für

diese Studie weiter angepasst indem einerseits der Säulenofen auf 50°C erhitzt wurde, dies beschleunigte die Messung an sich. Andererseits wurden die Messungen dieser Studie in einem modernen Massenspektrometer gemessen. Zusätzlich fand eine Reevaluation des Messmediums Blutplasma statt. Hierfür sollte unter anderem mittels eines Lagerungstests das Zeitintervall für die Zwischenlagerung der Blutproben bis zum Einfrieren bestimmt werden. Das Ergebnis zeigte relevante Konzentrationsänderungen bei Proben, die länger als 120 Minuten bei RT lagerten (Frische, 2021). Als Konsequenz aus dieser Beobachtung wurden bei dieser Untersuchung alle Blutproben so schnell wie möglich abzentrifugiert und eingefroren. Blutproben, die länger als 120 Minuten bei RT lagerten, wurden verworfen und sind nicht Teil dieser Ergebnisse. Aufgrund dessen kann in dieser Studie davon ausgegangen werden, dass Konzentrationsschwankungen nicht auf einen etwaigen Zellzerfall innerhalb der Proben durch lange Lagerung bei RT zurückgeführt werden können. In dieser Studie konnten infolgedessen für drei Purine/Pyrimidie 100% aller MW über der NWG ermittelt werden. Für acht Purine/Pyrimidine konnten in mindestens einer Gruppe über 50 % der MW über der NWG ermittelt werden. Dies lässt eine verbesserte Analyse und Aussagekraft zu. Um zu vermeiden, dass die ermittelten Konzentrationen zu gering sind, um detektiert werden zu können, sollte trotzdem eine weitere Anpassung der Messmethodik angestrebt werden, um die Nachweisgrenze weiter zu reduzieren und damit auch niedrigere Konzentrationen messbar zu machen.

4.4.2 Auswahl des Messmediums Blutplasma

In dieser Studie wurde als Messmedium das Blutplasma gewählt. Grundsätzlich wären diesbezüglich auch andere Methoden denkbar gewesen. In der oben bereits erwähnten Studie von Dudzinska wurde entproteinisiertes Vollblut zur Analyse von Hypoxanthin und Uridin verwendet (Dudzinska, 2011) während O'Connor et al. zwar ebenfalls Blutplasma verwendete, dieses jedoch in Lithium-Heparin-Röhrchen aufarbeitete (O'Connor et al., 1981a).

Für Konzentrationsanalysen im Untersuchungsmedium MM liegen mit 10 Studien im Zeitraum von 25 Jahren (von 1994 bis 2019) zwar mehr Daten vor, aber auch

hier ist ein Vergleich der Werte aufgrund unterschiedlicher Methoden der Milchgewinnung und -analyse nur eingeschränkt möglich (Hodgkinson et al., 2022). Zudem ist zu beachten, dass die Konzentration der Nukleotide in der MM starken Schwankungen unterlegen ist. Diese hängen von deren Ernährung (Yu, 2002), der geographischen Herkunft und Laktationswoche (Lerner & Shamir, 2000) ab. Auch innerhalb des einzelnen Tages (Mitoulas et al., 2002) schwanken die Konzentrationen stark. Dies macht einen Vergleich mit den in unserer Studie gewonnenen Blutproben fast unmöglich. Weitergehen stellt sich die Frage, ob ein Vergleich von zwei so unterschiedlichen Stoffen wie Blut und Milch überhaupt sinnvoll wäre.

Aufgrund der Purin-Metabolisierung in Harnsäure und der anschließenden Ausscheidung durch den Urin kann der Harnsäure-Gehalt potenzielle Hinweise auf die Versorgung mit Purinen liefern (Maiuolo, Oppedisano, Gratteri, Muscoli, & Mollace, 2016). Ebenso könnte Amnionflüssigkeit als Probenmedium zur Messung genutzt werden. Diese wird durch die kindliche Haut, Lungen, Nieren und NS produziert und enthält ausgeschiedene Stoffwechselprodukte (O'Connor et al., 1981b). Aus Gründen der Vergleichbarkeit mit den wenigen vorliegenden eingangs diskutierter anderen Studien und einer schnellen Verfügbarkeit wurde für diese Studie letztendlich jedoch die Untersuchung des Blutplasmas gewählt.

4.4.3 Zeitpunkt der Blutentnahmen

Aus Gründen der besseren Planbarkeit fanden mit zwei Ausnahmen die Blutentnahmen der Mütter postnatal nach max. 48 Stunden statt. Unter Berücksichtigung der in dieser Studie gemachten Beobachtung, dass sich die Konzentration der Purine/Pyrimidine innerhalb von 72 Stunden (von NS-Plasma zur 1. BE) deutlich ändert, entsprechen die hier ermittelten Konzentration im mütterlichen Blut möglicherweise nicht denen zum Zeitpunkt der Geburt. Aus diesem Grund könnten zukünftig Blutentnahmen bei Schwangeren der verschiedenen SSW, hierfür aussagekräftige Vergleichswerte liefern. Ebenso fehlen Vergleichswerte der Reifgeborenen (Studiengruppe 5) 14 Tage postnatal, da diese zu diesem Zeitpunkt bereits aus der Klinik entlassen wurden. Aus Gründen der Vollständigkeit wäre diese Konzentrationsanalyse aufschlussreich.

4.5 Schlussfolgerung aus der Arbeit

Die primäre Analyse der Blutplasmakonzentrationen der Mütter, Kinder und der NS stellt in dieser Beobachtungsstudie eine Bestandsaufnahme und damit eine erste Grundlage für weitergehende Studien, die vielleicht einmal zu einer gezielten Supplementierung führen könnten, dar. Zur Konzentrationsbestimmung von Nukleotiden und Nukleosiden in menschlichem Blutplasma, insbesondere im Blutplasma Neugeborener, liegen bis heute wenig Daten vor, auch wenn deren positiver Nutzen als bewiesen gilt (Aggett et al., 2003; Cosgrove, 1998; Yu, 2002). In-vitro-Forschung und Tierexperimente konnten bestätigen, dass eine Nukleotid-Supplementation mit einer verbesserten Gewichtszunahme in der Neonatalperiode einhergehen und in Konsequenz daraus positive Effekte auf das langfristige kognitive Outcome hat (Singhal et al., 2010). Zudem wurde der positive Nutzen auch in Bezug auf den ausreifenden Gastrointestinaltrakt von FG (Bueno et al., 1994; Carver et al., 2002; Gyllenberg & Carlberg, 1958; Nuñez et al., 1990; Ozkan et al., 1994; Tanaka & Mutai, 1980; Uauy et al., 1990), sowie das humorale als auch zelluläre Immunsystem (Buck et al., 2004; Gutiérrez-Castrellón et al., 2007; Hawkes et al., 2006; Pickering et al., 1998), beschrieben.

Die ermittelten Konzentrationen weisen signifikante Unterschiede sowohl zwischen dem Blut der Mütter, dem NS-Plasma und dem kindlichen Plasma auf. Auch im Vergleich der einzelnen Studiengruppen in Abhängigkeit des Gestationsalters gibt es signifikante Konzentrationsunterschiede. Dies lässt eventuell darauf schließen, dass der Bedarf einzelner Nukleotide und -side in unterschiedlichen Entwicklungsstadien unterschiedlich groß sein könnte.

Die Konzentrationen in der NS, die den intrauterinen Verhältnissen am ähnlichsten sein könnten, sind bei FG dabei signifikant höher als bei Reifgeborenen. Diese erhöhten Plasmakonzentrationen könnten Ausdruck des erhöhten Bedarfs und für die normale Entwicklung des Feten wichtig sein.

Bis zum Zeitpunkt der Geburt am errechneten Termin wäre eine mögliche Erklärung für signifikant niedrige Konzentrationen im mütterlichen Plasma eine diaplazentare Nährstoffversorgung der Kinder durch die Mutter.

Nach Abbruch der plazentaren Versorgung des dann FG durch die vorzeitige Geburt gibt diese Studie die Möglichkeit zur weiteren Diskussion, ob der hohe Nährstoffbedarf der FG durch das derzeitige Ernährungsmanagement nicht gedeckt werden kann. In dieser Studie waren die Mediane der ermittelten Purin-/Pyrimidinkonzentrationen von Cytidin, Hypoxanthin und Inosin in Studiengruppe 1, bereits 72 Stunden nach der Geburt im kindlichen Plasma zwischen 40% (Hypoxanthin) und 83 % (Cytidin) niedriger als zum Zeitpunkt der Geburt in der NS. Dabei ist der Abfall in der Gruppe der FG, die die höchsten Plasmakonzentrationen im NS-Blut hatten (Gruppe 1 und 2), signifikant höher als bei Reifgeborenen.

Die für das Entwicklungsstadium (im Vergleich zur Konzentration im NS-Plasma) eventuell zu niedrige Plasmakonzentrationen von Cytidin, Hypoxanthin, Xanthin, Inosin im Alter von 14 Tagen legt nahe, dass auch nach abgeschlossener Umstellung auf enterale Nahrung die Nährstoffzufuhr dieser nicht der Zufuhr durch die Plazenta entspricht.

Die in der Studie untersuchten Mikronährstoffe, die Purine und Pyrimidine, sowie deren Derivate, könnten als entscheidender Baustein in der Entwicklung FG eine wichtige Rolle spielen. In Anbetracht der Tatsache, dass es sich bei diesen um Nährstoffe handelt, die für die Entwicklung schnell wachsender FG essenziell sind, können die in dieser Studie ermittelten, für das Entwicklungsstadium evtl. zu niedrige Plasmakonzentrationen, negative Folgen haben.

Die Aufnahme durch die MM scheint dem Kenntnisstand dieser Studie folgend, für FG nicht auszureichen. Um die Notwendigkeit einer mit Nukleotiden angereicherten Nahrung zu bestätigen, schließt sich dieser Studie eine Konzentrationsbestimmung von Purinen und Pyrimidinen in den MM-Proben an. Mit Hilfe dieser MM-Konzentrationen könnte zunächst die tatsächliche Zufuhr abgeschätzt werden. Ferner ließe sich die Zufuhr der gemessenen Konzentrationen gegenüberstellen.

Falls, wie durch diese Studie vermutet, die Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine in der MM den vermutlich hohen Bedarf FG nicht decken kann, kann sich daraus die Hypothese ableiten, dass eine Supplementation der

Nahrung mit notwendig wäre. Hier liefern die in dieser Studie ermittelten NS-Konzentrationen Referenzwerte, um ein individuelles, an die intrauterinen Verhältnisse angepasstes Ernährungsmanagement zu etablieren. Damit könnten chronische Krankheitsverläufe und Komplikationen als Folge der Frühgeburtlichkeit reduziert werden und durch die Ernährung ein Wachstum entsprechend der intrauterinen Wachstumskurven erreicht werden.

Diese Beobachtungsstudie macht damit die Unerlässlichkeit weiterer Studien zur Versorgung Früh- und Reifgeborener mit Purinen und Pyrimidinen, sowohl intrauterin als auch postnatal deutlich und trägt mit den Ergebnissen zum besseren Verständnis von ausgewählten Mikronährstoffen für FG bei.

5 Zusammenfassung

Die Inzidenz einer Frühgeburt, definiert als Beendigung der Schwangerschaft vor der vollendeten 37.SSW, liegt in Deutschland bei 8% (Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), 2022; Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen, 2021). Die Frühgeburtenrate hielt sich in den letzten zehn Jahren stabil, jedoch nahm die Häufigkeit einer extremen Frühgeburt vor der 28. SSW um 65% (Schleußner, 2013) zu. Diese Entwicklung rückt die Bedeutung neonataler Behandlungsmöglichkeiten in den Mittelpunkt dieser Betrachtung. Als einer der wichtigsten Fortschritte sei hier das individuelle Ernährungsmanagement (Delnord & Zeitlin, 2019) zu nennen. Die Ernährung Frühgeborener als Stellschraube im perinatalen Behandlungsmanagement erscheint zentral, um eine frühe Wachstumsverzögerung und in Konsequenz die Entstehung akuter wie chronischer Krankheitsverläufe und Komplikationen als Folge der Frühgeburtlichkeit zu verhindern (Bonnar & Fraser, 2019; Ehrenkranz et al., 2006; Franz et al., 2009; Gianni et al., 2012). Als Ziel sollte ein Wachstum entsprechend der intrauterinen Wachstumskurven erreicht werden (Fusch et al., 2009; Koletzko et al., 2007). Dabei ist zu beachten, dass Frühgeborene um den Faktor zwei bis drei schneller (Landau-Crangle et al., 2018) wachsen als Reifgeborene. FG verfügen hierbei über weniger Nahrungsreserven bei gleichzeitig erhöhtem Nährstoffbedarf. Muttermilch allein, die als optimale Ernährung für Reifgeborene gilt (Victoria et al., 2016), verfügt für die besonderen Anforderungen der Frühgeborenen nicht über ausreichende Nährstoffe (Arslanoglu et al., 2019). Dies macht eine Supplementierung mit diversen Makro- und Mikronährstoffen notwendig. Ob die Ernährung von Frühgeborenen mit nach aktuellem Standard angereicherter Muttermilch den Bedarf an bestimmten Mikronährstoffen, wie unter anderem Nukleotide oder Nukleoside, ausreichend deckt, ist bislang nicht hinreichend geklärt. Nukleotide und Nukleoside spielen eine Schlüsselrolle in zahlreichen intrazellulären biochemischen Prozessen und sind für die Funktion des lebenden Körpers wesentlich (Cosgrove, 1998). Diverse Studien zeigen, dass besonders für schnell wachsende Gewebe eine exogene Zufuhr von Nukleotiden für deren optimale Versorgung und regelrechte Funktion, essenziell ist (Aggett et al., 2003; Cosgrove, 1998; Yu, 2002). In-vitro-Forschung

und Tierexperimente bestätigen, dass eine Nukleotid-Supplementation neben einer verbesserten Gewichtszunahme (Singhal et al., 2010), auch positive Effekte auf den ausreifenden Gastrointestinaltrakt (Bueno et al., 1994; Carver et al., 2002; Gyllenberg & Carlberg, 1958; Nuñez et al., 1990; Ozkan et al., 1994; Singhal et al., 2008; Tanaka & Mutai, 1980; Uauy et al., 1990), das humorale wie auch zelluläre Immunsystem (Buck et al., 2004; Gutiérrez-Castrellón et al., 2007; Hawkes et al., 2006; Pickering et al., 1998) und das langfristige kognitive Outcome (Singhal et al., 2010), hat. Die positiven Effekte mit Nukleotiden angereicherter Nahrung auf die frühe Phase des menschlichen Lebens gelten als gesichert (Lerner & Shamir, 2000).

Ziel dieser Beobachtungsstudie war, die Konzentration von Purinen und Pyrimidinen sowie deren Derivate 1. im NS-Plasma, 2. im Plasma Früh- und Neugeborener und 3. deren Müttern zum Zeitpunkt der Geburt und im weiteren Verlauf nach 72 Stunden und 14 Tagen zu bestimmen und diese in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Geburt zu betrachten. Hierfür wurde die Studienpopulation (N=155) in 5 Studiengruppen (N=30-33) entsprechend ihrem Gestationsalter, von der 23 + 0/7 bis zur 42 + 6/7 SSW unterteilt. Dabei sind Studiengruppe 1 bis 4 die Gruppe der FG (<37 SSW), während Studiengruppe 5 der Reifgeborenen (≥ 37 SSW) als Kontrollgruppe gilt.

Die Konzentrationen der 19 ausgewählten Purine/Pyrimidine wurden nach vorangegangener Aufbereitung der Plasmaproben mittels Triplequadropol-Tandemmassenspektrometer mit Elektrosprayionisations-Interface (LC-ESI-MS/MS) gemessen. Dabei wurden in der Nabelschnur acht, im mütterlichen Blut sechs, in den kindlichen Plasmaproben neun (BE1) und zehn (BE2) Purine/Pyrimidine mehrheitlich über der Nachweisgrenze ermittelt. Die Pyrimidine Cytosin, Uracil, Thymin, Thymidin, UMP, TMP sowie die Purine Adenin, Guanosin und IMP wurden in keiner analysierten Probe nachgewiesen. Für diese Moleküle war das Messverfahren offensichtlich nicht sensitiv genug. Insgesamt wurden sechs der insgesamt 19 Purine/Pyrimidine zur detaillierteren Analyse ausgewählt: Die Pyrimidinderivate Cytidin (Gesamtmedian 0,11 $\mu\text{mol/L}$) und Uridin (4,48 $\mu\text{mol/L}$), die Purinbasen Hypoxanthin (7,18 $\mu\text{mol/L}$), Xanthin (0,26

µmol/L), das Purinderivat Inosin (0,08 µmol/L) und das Nukleomonophosphat AMP (0,55µmol/L).

Dabei kam diese Studie zu den Ergebnissen, dass:

(1) Signifikante Unterschiede zwischen den Plasma-Konzentrationen ausgewählter Purine und Pyrimidine der NS-Proben und der kindlichen sowie mütterlichen Proben bestanden.

(1.1) Die ermittelten Konzentrationen in den NS-Plasmaproben am höchsten waren und bei steigendem Gestationsalter mit Ausnahme von Xanthin abnahmen.

(1.2.) Die ermittelten Konzentrationen in den mütterlichen Plasmaproben am niedrigsten waren.

(2) Signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Studiengruppen bestanden.

(2.1) Die Konzentrationen ausgewählter Purine/Pyrimidine im Blutplasma der Kinder nach 72 Stunden postnatal signifikant niedriger als die ermittelten Konzentrationen in den NS-Plasmaproben zum Zeitpunkt der Geburt waren. Der Konzentrationsabfall war bei den extrem Frühgeborenen (Studiengruppe 1) am höchsten und wurde weniger, desto höher die Gestationswoche bei Geburt war.

(2.2) Die Purin-/Pyrimidinkonzentrationen sich nach 14 Tagen stationärem Aufenthalt im Blut der Kinder nochmals reduzierte. Auch hier war der Konzentrationsabfall im Blut der extremen und sehr frühen Frühgeborenen (<31 6/7 SSW) am höchsten.

Damit werden in dieser Studie folgende Hypothesen aufgestellt:

(1) Der in dieser Studie beobachtete Konzentrationsgradient zwischen den relativ niedrigen Konzentrationen im mütterlichen Plasma und den vergleichsweise hohen Plasma-Konzentrationen im NS-Blut der FG (Gruppe 1,2,3) könnte als Folge eines aktiven plazentaren Transportes in utero gedeutet werden.

(2) Die signifikant höheren Konzentrationen im NS-Plasma der FG (Gruppe 1,2,3), die den intrauterinen Verhältnissen am ähnlichsten sein könnten, könnten Ausdruck eines erhöhten Bedarfs im Vergleich zu Reifgeborenen, und

damit für die normale Entwicklung des Feten wichtig sein. Alternativ könnten die erhöhten Konzentrationen im NS-Plasma auf pathologische Zustände zurückzuführen sein, die zur vorzeitigen Geburt führten.

(3) Der rasche Konzentrationsabfall zwischen den Blutproben der NS und den kindlichen Blutproben nach 72 Stunden könnte hinweisend für einen Abbruch der plazentaren Versorgung und in Konsequenz abgebrochenen diaplazentaren Nährstoffversorgung sein.

(4) Sowohl nach 72 Stunden als auch 14 Tagen postnatal waren die Purin-/Pyrimidinkonzentrationen im Blut der FG niedriger als zum Zeitpunkt der Geburt in der NS. Dies könnte Hinweis darauf sein, dass die derzeit ergriffenen Maßnahmen im Ernährungsmanagement nicht ausreichen, um einen etwaigen hohen Bedarf zu decken.

(5) Um die Notwendigkeit einer mit Nukleotiden angereicherten Nahrung weiter prüfen zu können, schließt sich dieser Studie eine Konzentrationsbestimmung ausgewählter Purine/Pyrimidine in den MM-Proben an.

Falls eine Supplementation als notwendig erachtet werden sollte, könnten die hier ermittelten Nabelschnur-Konzentrationen Reifealter-spezifische Referenzwerte liefern, um ein individuelles Ernährungsmanagement zu etablieren und so ein Wachstum entsprechend der intrauterinen Wachstumskurven zu erreichen.

Diese Beobachtungsstudie macht die Unerlässlichkeit weiterer Studien zur Versorgung Früh- und Reifgeborener mit Purinen und Pyrimidinen, sowohl intrauterin als auch postnatal, deutlich und trägt mit ihren Ergebnissen zum besseren Verständnis der Bedeutung von ausgewählten Mikronährstoffen bei.

6 Literaturverzeichnis

- Aggett, P., Leach, J. L., Rueda, R., & MacLean, W. C., Jr. (2003). Innovation in infant formula development: a reassessment of ribonucleotides in 2002. *Nutrition, 19*(4), 375-384. doi:10.1016/s0899-9007(02)00999-1
- Agostoni, C., Buonocore, G., Carnielli, V. P., De Curtis, M., Darmaun, D., Decsi, T., . . . Ziegler, E. E. (2010). Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr, 50*(1), 85-91. doi:10.1097/MPG.0b013e3181adaee0
- Anderson, J. W., Johnstone, B. M., & Remley, D. T. (1999). Breast-feeding and cognitive development: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr, 70*(4), 525-535. doi:10.1093/ajcn/70.4.525
- Arch, J. R., & Newsholme, E. A. (1978). The control of the metabolism and the hormonal role of adenosine. *Essays Biochem, 14*, 82-123.
- Arslanoglu, S., Boquien, C. Y., King, C., Lamireau, D., Tonetto, P., Barnett, D., . . . Picaud, J. C. (2019). Fortification of Human Milk for Preterm Infants: Update and Recommendations of the European Milk Bank Association (EMBA) Working Group on Human Milk Fortification. *Front Pediatr, 7*, 76. doi:10.3389/fped.2019.00076
- Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am, 60*(1), 49-74. doi:10.1016/j.pcl.2012.10.002
- Bernhard, W., Raith, M., Kunze, R., Koch, V., Heni, M., Maas, C., . . . Franz, A. R. (2015). Choline concentrations are lower in postnatal plasma of preterm infants than in cord plasma. *Eur J Nutr, 54*(5), 733-741. doi:10.1007/s00394-014-0751-7
- Bhat, B. A., & Gupta, B. (2003). Effects of human milk fortification on morbidity factors in very low birth weight infants. *Ann Saudi Med, 23*(1-2), 28-31. doi:10.5144/0256-4947.2003.28
- Bonnar, K., & Fraser, D. (2019). Extrauterine Growth Restriction in Low Birth Weight Infants. *Neonatal Netw, 38*(1), 27-33. doi:10.1891/0730-0832.38.1.27
- Buck, R. H., Thomas, D. L., Winship, T. R., Cordle, C. T., Kuchan, M. J., Baggs, G. E., . . . Wheeler, J. G. (2004). Effect of dietary ribonucleotides on infant immune status. Part 2: Immune cell development. *Pediatr Res, 56*(6), 891-900. doi:10.1203/01.Pdr.0000145577.03287.Fa
- Bueno, J., Torres, M., Almendros, A., Carmona, R., Nuñez, M. C., Rios, A., & Gil, A. (1994). Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhoea. Histological and ultrastructural changes. *Gut, 35*(7), 926-933. doi:10.1136/gut.35.7.926
- Carver, J. D., Saste, M., Sosa, R., Zaritt, J., Kuchan, M., & Barness, L. A. (2002). The effects of dietary nucleotides on intestinal blood flow in

- preterm infants. *Pediatr Res*, 52(3), 425-429. doi:10.1203/00006450-200209000-00020
- Cosgrove, M. (1998). Perinatal and infant nutrition. Nucleotides. *Nutrition*, 14(10), 748-751. doi:10.1016/s0899-9007(98)00075-6
- Delnord, M., & Zeitlin, J. (2019). Epidemiology of late preterm and early term births - An international perspective. *Semin Fetal Neonatal Med*, 24(1), 3-10. doi:10.1016/j.siny.2018.09.001
- Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG). (2022, Oct 2022). S2k-Leitlinie Prävention und Therapie der Frühgeburt. Retrieved from <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/015-025>
- Doyle, L. W., & Casalez, D. (2001). Outcome at 14 years of extremely low birthweight infants: a regional study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 85(3), 159-164. doi:10.1136/fn.85.3.f159
- Drenckpohl, D., McConnell, C., Gaffney, S., Niehaus, M., & Macwan, K. S. (2008). Randomized trial of very low birth weight infants receiving higher rates of infusion of intravenous fat emulsions during the first week of life. *Pediatrics*, 122(4), 743-751. doi:10.1542/peds.2007-2282
- Dudzinska, W. (2011). Uridine correlates with the concentration of fructosamine and HbA1c in children with type 1 diabetes. *Acta Paediatr*, 100(5), 712-716. doi:10.1111/j.1651-2227.2011.02146.x
- Ehrenkranz, R. A., Dusick, A. M., Vohr, B. R., Wright, L. L., Wrage, L. A., & Poole, W. K. (2006). Growth in the neonatal intensive care unit influences neurodevelopmental and growth outcomes of extremely low birth weight infants. *Pediatrics*, 117(4), 1253-1261. doi:10.1542/peds.2005-1368
- Eichenwald, E. C., & Stark, A. R. (2008). Management and outcomes of very low birth weight. *N Engl J Med*, 358(16), 1700-1711. doi:10.1056/NEJMra0707601
- Esplin, M. S. (2006). Preterm birth: a review of genetic factors and future directions for genetic study. *Obstet Gynecol Surv*, 61(12), 800-806. doi:10.1097/01.ogx.0000248747.52343.5f
- Fenton, T. R., & Kim, J. H. (2013). A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr*, 13, 59. doi:10.1186/1471-2431-13-59
- Franz, A. R., Pohlandt, F., Bode, H., Mihatsch, W. A., Sander, S., Kron, M., & Steinmacher, J. (2009). Intrauterine, early neonatal, and postdischarge growth and neurodevelopmental outcome at 5.4 years in extremely preterm infants after intensive neonatal nutritional support. *Pediatrics*, 123(1), 101-109. doi:10.1542/peds.2008-1352
- Frische, B. K. (2021). *Konzentration von Purinen und Pyrimidinen im Nabelschnurblut von Früh- und Reifgeborenen – eine Beobachtungsstudie*. Eberhard Karls Universität zu Tübingen,

- Fusch, C., Bauer, K., Böhles, H. J., Jochum, F., Koletzko, B., Krawinkel, M., . . . Mühlebach, S. (2009). Neonatology/Paediatrics - Guidelines on Parenteral Nutrition, Chapter 13. *Ger Med Sci*, 7, Doc15. doi:10.3205/000074
- Gianni, M. L., Roggero, P., Liotto, N., Amato, O., Piemontese, P., Morniroli, D., . . . Mosca, F. (2012). Postnatal catch-up fat after late preterm birth. *Pediatr Res*, 72(6), 637-640. doi:10.1038/pr.2012.128
- Graham, E. M., Ruis, K. A., Hartman, A. L., Northington, F. J., & Fox, H. E. (2008). A systematic review of the role of intrapartum hypoxia-ischemia in the causation of neonatal encephalopathy. *Am J Obstet Gynecol*, 199(6), 587-595. doi:10.1016/j.ajog.2008.06.094
- Griffiths, M., Yao, S. Y., Abidi, F., Phillips, S. E., Cass, C. E., Young, J. D., & Baldwin, S. A. (1997). Molecular cloning and characterization of a nitrobenzylthioinosine-insensitive (ei) equilibrative nucleoside transporter from human placenta. *Biochem J*, 328 (Pt 3)(Pt 3), 739-743. doi:10.1042/bj3280739
- Gutiérrez-Castrellón, P., Mora-Magaña, I., Díaz-García, L., Jiménez-Gutiérrez, C., Ramirez-Mayans, J., & Solomon-Santibáñez, G. A. (2007). Immune response to nucleotide-supplemented infant formulae: systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr*, 98 Suppl 1, S64-67. doi:10.1017/s000711450783296x
- Gyllenberg, H., & Carlberg, G. (1958). The nutritional characteristics of the bifid bacteria (*Lactobacillus bifidus*) in infants. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 44(3), 287-292. doi:10.1111/j.1699-0463.1958.tb01077.x
- Hack, M., Wilson-Costello, D., Friedman, H., Taylor, G. H., Schluchter, M., & Fanaroff, A. A. (2000). Neurodevelopment and predictors of outcomes of children with birth weights of less than 1000 g: 1992-1995. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 154(7), 725-731. doi:10.1001/archpedi.154.7.725
- Hawkes, J. S., Gibson, R. A., Roberton, D., & Makrides, M. (2006). Effect of dietary nucleotide supplementation on growth and immune function in term infants: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*, 60(2), 254-264. doi:10.1038/sj.ejcn.1602310
- Hodgkinson, A., Wall, C., Wang, W., Szeto, I. M., Ye, W., & Day, L. (2022). Nucleotides: an updated review of their concentration in breast milk. *Nutr Res*, 99, 13-24. doi:10.1016/j.nutres.2021.09.004
- Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen. (2021). Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2020 - Geburtshilfe. Qualitätsindikatoren und Kennzahlen. Retrieved from <https://iqtig.org/qs-verfahren/peri/>
- Institute of Medicine Committee on Understanding Premature Birth Assuring Healthy Outcomes. (2007). *The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health*. Retrieved from Washington (DC): <https://nap.nationalacademies.org/catalog/11622/preterm-birth-causes-consequences-and-prevention>

- Janas, L. M., & Picciano, M. F. (1982). The nucleotide profile of human milk. *Pediatr Res*, 16(8), 659-662. doi:10.1203/00006450-198208000-00014
- Jeschke, E., Biermann, A., Günster, C., Böhler, T., Heller, G., Hummler, H. D., & Bühner, C. (2016). *Mortality and Major Morbidity of Very-Low-Birth-Weight Infants in Germany 2008-2012: A Report Based on Administrative Data* (2296-2360). Retrieved from
- Johnson, M. J., Lapillonne, A., Bronsky, J., Domellof, M., Embleton, N., Iacobelli, S., . . . Saenz de Pipaon, M. (2022). Research priorities in pediatric parenteral nutrition: a consensus and perspective from ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN. *Pediatr Res*, 92(1), 61-70. doi:10.1038/s41390-021-01670-9
- Keirse, M. J. (1995). New perspectives for the effective treatment of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*, 173(2), 618-628. doi:10.1016/0002-9378(95)90292-9
- Kjellmer, I., Andiné, P., Hagberg, H., & Thiringer, K. (1989). Extracellular increase of hypoxanthine and xanthine in the cortex and basal ganglia of fetal lambs during hypoxia-ischemia. *Brain Res*, 478(2), 241-247. doi:10.1016/0006-8993(89)91504-7
- Koletzko, B., Jauch, K. W., Krohn, K., & Verwied-Jorky, S. (2007). Leitlinie Parenterale Ernährung der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin e. V. (DGEM)*. *Aktuelle Ernährungsmedizin*, 32(S 1), S1-S2. doi:10.1055/s-2006-951869
- Kramer, M. S., Aboud, F., Mironova, E., Vanilovich, I., Platt, R. W., Matush, L., . . . Shapiro, S. (2008). Breastfeeding and child cognitive development: new evidence from a large randomized trial. *Arch Gen Psychiatry*, 65(5), 578-584. doi:10.1001/archpsyc.65.5.578
- Lack, N., & Schneider, K. T. (2005). Quality measurement between illusion and reality--is the quality of medical care measurable? *Z Geburtshilfe Neonatol*, 209(1), 1-7. doi:10.1055/s-2005-837793
- Landau-Crangle, E., Rochow, N., Fenton, T. R., Liu, K., Ali, A., So, H. Y., . . . Fusch, C. (2018). Individualized Postnatal Growth Trajectories for Preterm Infants. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 42(6), 1084-1092. doi:10.1002/jpen.1138
- Lerner, A., & Shamir, R. (2000). Nucleotides in infant nutrition: a must or an option. *Isr Med Assoc J*, 2(10), 772-774.
- Liao, K. Y., Wu, T. C., Huang, C. F., Lin, C. C., Huang, I. F., & Wu, L. (2011). Profile of nucleotides and nucleosides in Taiwanese human milk. *Pediatr Neonatol*, 52(2), 93-97. doi:10.1016/j.pedneo.2011.02.012
- Lipp-Zwahlen, A. E., Tuchschild, P., Silberschmidt, M., & Duc, G. (1983). Arterial cord blood hypoxanthine: a measure of intrauterine hypoxia? *Biol Neonate*, 44(4), 193-202. doi:10.1159/000241714

- Lucas, A., & Cole, T. J. (1990). Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. *Lancet*, 336(8730), 1519-1523. doi:10.1016/0140-6736(90)93304-8
- Lucas, A., Fewtrell, M. S., Davies, P. S., Bishop, N. J., Clough, H., & Cole, T. J. (1997). Breastfeeding and catch-up growth in infants born small for gestational age. *Acta Paediatr*, 86(6), 564-569. doi:10.1111/j.1651-2227.1997.tb08935.x
- Maas, C., Mitt, S., Full, A., Arand, J., Bernhard, W., Poets, C. F., & Franz, A. R. (2013). A historic cohort study on accelerated advancement of enteral feeding volumes in very premature infants. *Neonatology*, 103(1), 67-73. doi:10.1159/000342223
- Maier, R. F., & Obladen, M. (2017). *Neugeborenenintensivmedizin* (Vol. 9. Auflage): Springer
- Maiuolo, J., Oppedisano, F., Gratteri, S., Muscoli, C., & Mollace, V. (2016). Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int J Cardiol*, 213, 8-14. doi:10.1016/j.ijcard.2015.08.109
- Mateos Antón, F., García Puig, J., Ramos Hernández, T., Carranza Ramos, R., López Jiménez, M., & Ortiz Vázquez, J. (1989). Plasma hypoxanthine and intraerythrocytic ATP in umbilical cord blood as markers of perinatal hypoxia. *An Esp Pediatr*, 31(1), 5-9.
- Mihatsch, W. A., Braegger, C., Bronsky, J., Cai, W., Campoy, C., Carnielli, V., . . . Yan, W. (2018). ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition. *Clin Nutr*, 37(6 Pt B), 2303-2305. doi:10.1016/j.clnu.2018.05.029
- Miller, J., Tonkin, E., Damarell, R. A., McPhee, A. J., Suganuma, M., Suganuma, H., . . . Collins, C. T. (2018). A Systematic Review and Meta-Analysis of Human Milk Feeding and Morbidity in Very Low Birth Weight Infants. *Nutrients*, 10(6), 707. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/6/707>
- Mitoulas, L. R., Kent, J. C., Cox, D. B., Owens, R. A., Sherriff, J. L., & Hartmann, P. E. (2002). Variation in fat, lactose and protein in human milk over 24 h and throughout the first year of lactation. *Br J Nutr*, 88(1), 29-37. doi:10.1079/bjnbjn2002579
- Morgan, C., McGowan, P., Herwitker, S., Hart, A. E., & Turner, M. A. (2014). Postnatal head growth in preterm infants: a randomized controlled parenteral nutrition study. *Pediatrics*, 133(1), e120-128. doi:10.1542/peds.2013-2207
- Mosca, F., & Gianni, M. L. (2017). Human milk: composition and health benefits. *Pediatr Med Chir*, 39(2), 155. doi:10.4081/pmc.2017.155
- Murray, C. J., Vos, T., Lozano, R., Naghavi, M., Flaxman, A. D., Michaud, C., . . . Memish, Z. A. (2012). Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for

- the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380(9859), 2197-2223. doi:10.1016/s0140-6736(12)61689-4
- Myrhaug, H. T., Brurberg, K. G., Hov, L., & Markestad, T. (2019). Survival and Impairment of Extremely Premature Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics*, 143(2). doi:10.1542/peds.2018-0933
- Norberg, H., Kowalski, J., Maršál, K., & Norman, M. (2017). Timing of antenatal corticosteroid administration and survival in extremely preterm infants: a national population-based cohort study. *Bjog*, 124(10), 1567-1574. doi:10.1111/1471-0528.14545
- Núñez, M. C., Ayudarte, M. V., Morales, D., Suarez, M. D., & Gil, A. (1990). Effect of dietary nucleotides on intestinal repair in rats with experimental chronic diarrhea. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 14(6), 598-604. doi:10.1177/0148607190014006598
- O'Connor, M. C., Harkness, R. A., Simmonds, R. J., & Hytten, F. E. (1981a). The measurement of hypoxanthine, xanthine, inosine and uridine in umbilical cord blood and fetal scalp blood samples as a measure of fetal hypoxia. *Br J Obstet Gynaecol*, 88(4), 381-390. doi:10.1111/j.1471-0528.1981.tb01001.x
- O'Connor, M. C., Harkness, R. A., Simmonds, R. J., & Hytten, F. E. (1981b). Raised hypoxanthine, xanthine and uridine concentrations in meconium stained amniotic fluid and during labour. *Br J Obstet Gynaecol*, 88(4), 375-380. doi:10.1111/j.1471-0528.1981.tb01000.x
- Ozkan, H., Oren, H., Erdag, N., & Cevik, N. (1994). Breast milk versus infant formulas: effects on intestinal blood flow in neonates. *Indian J Pediatr*, 61(6), 703-709. doi:10.1007/bf02751984
- Pickering, L. K., Granoff, D. M., Erickson, J. R., Masor, M. L., Cordle, C. T., Schaller, J. P., . . . Hilty, M. D. (1998). Modulation of the immune system by human milk and infant formula containing nucleotides. *Pediatrics*, 101(2), 242-249. doi:10.1542/peds.101.2.242
- Pietz, J., Peter, J., Graf, R., Rauterberg-Ruland, I., Rupp, A., Sontheimer, D., & Linderkamp, O. (2004). Physical growth and neurodevelopmental outcome of nonhandicapped low-risk children born preterm. *Early Hum Dev*, 79(2), 131-143. doi:10.1016/j.earlhumdev.2004.05.001
- Porter, K. B., O'Brien, W. F., & Benoit, R. (1992). Comparison of cord purine metabolites to maternal and neonatal variables of hypoxia. *Obstet Gynecol*, 79(3), 394-397. doi:10.1097/00006250-199203000-00014
- Possner, M. (12.09.20224). [Persönliche Anfrage per Mail an Nestlé Nutrition GmbH Frankfurt; Possner, M.].
- Rassow, J., Netzker, R., & Hauser, K. (2022). *Duale Reihe Biochemie* (Vol. 5. Auflage). Stuttgart Thieme.
- Roggero, P., Gianni, M. L., Amato, O., Orsi, A., Piemontese, P., Morlacchi, L., & Mosca, F. (2009). Is term newborn body composition being achieved

- postnatally in preterm infants? *Early Human Development*, 85(6), 349-352. doi:10.1016/j.earlhumdev.2008.12.011
- Sammallahti, S., Pyhälä, R., Lahti, M., Lahti, J., Pesonen, A. K., Heinonen, K., . . . Rääkkönen, K. (2014). Infant growth after preterm birth and neurocognitive abilities in young adulthood. *J Pediatr*, 165(6), 1109-1115. doi:10.1016/j.jpeds.2014.08.028
- Schanler, R. J., Shulman, R. J., & Lau, C. (1999). Feeding strategies for premature infants: beneficial outcomes of feeding fortified human milk versus preterm formula. *Pediatrics*, 103(6 Pt 1), 1150-1157. doi:10.1542/peds.103.6.1150
- Scheepers, L. E., Boonen, A., Pijnenburg, W., Bierau, J., Staessen, J. A., Stehouwer, C. D., . . . Arts, I. C. (2017). Associations of plasma uric acid and purine metabolites with blood pressure in children: the KOALA Birth Cohort Study. *J Hypertens*, 35(5), 982-993. doi:10.1097/hjh.0000000000001270
- Schleußner, E. (2013). The prevention, diagnosis and treatment of premature labor. *Dtsch Arztebl Int*, 110(13), 227-235. doi:10.3238/arztebl.2013.0227
- Schrader, J., Baumann, G., & Gerlach, E. (1977). Adenosine as inhibitor of myocardial effects of catecholamines. *Pflugers Arch*, 372(1), 29-35. doi:10.1007/bf00582203
- Shah, P. S., Shah, V., Qiu, Z., Ohlsson, A., & Lee, S. K. (2005). Improved outcomes of outborn preterm infants if admitted to perinatal centers versus freestanding pediatric hospitals. *J Pediatr*, 146(5), 626-631. doi:10.1016/j.jpeds.2005.01.030
- Silvers, K. M., Sluis, K. B., Darlow, B. A., McGill, F., Stocker, R., & Winterbourn, C. C. (2001). Limiting light-induced lipid peroxidation and vitamin loss in infant parenteral nutrition by adding multivitamin preparations to Intralipid. *Acta Paediatr*, 90(3), 242-249.
- Singhal, A., Kennedy, K., Lanigan, J., Clough, H., Jenkins, W., Elias-Jones, A., . . . Lucas, A. (2010). Dietary nucleotides and early growth in formula-fed infants: a randomized controlled trial. *Pediatrics*, 126(4), e946-953. doi:10.1542/peds.2009-2609
- Singhal, A., Macfarlane, G., Macfarlane, S., Lanigan, J., Kennedy, K., Elias-Jones, A., . . . Lucas, A. (2008). Dietary nucleotides and fecal microbiota in formula-fed infants: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 87(6), 1785-1792. doi:10.1093/ajcn/87.6.1785
- Sisk, P. M., Lovelady, C. A., Dillard, R. G., Gruber, K. J., & O'Shea, T. M. (2007). Early human milk feeding is associated with a lower risk of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *J Perinatol*, 27(7), 428-433. doi:10.1038/sj.jp.7211758
- Sritipsukho, S., Suarod, T., & Sritipsukho, P. (2007). Survival and outcome of very low birth weight infants born in a university hospital with level II NICU. *J Med Assoc Thai*, 90(7), 1323-1329.

- Sugawara, M., Sato, N., Nakano, T., Idota, T., & Nakajima, I. (1995). Profile of nucleotides and nucleosides of human milk. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, *41*(4), 409-418. doi:10.3177/jnsv.41.409
- Tanaka, R., & Mutai, M. (1980). Improved medium for selective isolation and enumeration of Bifidobacterium. *Appl Environ Microbiol*, *40*(5), 866-869. doi:10.1128/aem.40.5.866-869.1980
- Uauy, R., Stringel, G., Thomas, R., & Quan, R. (1990). Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, *10*(4), 497-503. doi:10.1097/00005176-199005000-00014
- Victora, C. G., Bahl, R., Barros, A. J., França, G. V., Horton, S., Krasevec, J., . . . Rollins, N. C. (2016). Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet*, *387*(10017), 475-490. doi:10.1016/s0140-6736(15)01024-7
- Vlaardingerbroek, H., Veldhorst, M. A., Spronk, S., van den Akker, C. H., & van Goudoever, J. B. (2012). Parenteral lipid administration to very-low-birth-weight infants--early introduction of lipids and use of new lipid emulsions: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, *96*(2), 255-268. doi:10.3945/ajcn.112.040717
- Vogel, J. P., Chawanpaiboon, S., Moller, A. B., Watananirun, K., Bonet, M., & Lumbiganon, P. (2018). The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, *52*, 3-12. doi:10.1016/j.bpobgyn.2018.04.003
- Wang, L., Liu, J., Lv, H., Zhang, X., & Shen, L. (2015). Effects of Nucleotides Supplementation of Infant Formulas on Plasma and Erythrocyte Fatty Acid Composition: A Meta-Analysis. *PLoS One*, *10*(6). doi:10.1371/journal.pone.0127758
- Wang, L., Mu, S., Xu, X., Shi, Z., & Shen, L. (2019). Effects of dietary nucleotide supplementation on growth in infants: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Nutr*, *58*(3), 1213-1221. doi:10.1007/s00394-018-1640-2
- Yang, L., Guo, Z., Yu, M., Cai, X., Mao, Y., Tian, F., . . . Xie, L. (2022). Profile of Nucleotides in Chinese Mature Breast Milk from Six Regions. *Nutrients*, *14*(7). doi:10.3390/nu14071418
- Yu, V. Y. (2002). Scientific rationale and benefits of nucleotide supplementation of infant formula. *J Paediatr Child Health*, *38*(6), 543-549. doi:10.1046/j.1440-1754.2002.00056.x
- Zeitlin, J., Wildman, K., Bréart, G., Alexander, S., Barros, H., Blondel, B., . . . Macfarlane, A. (2003). PERISTAT: indicators for monitoring and evaluating perinatal health in Europe. *Eur J Public Health*, *13*(3 Suppl), 29-37. doi:10.1093/eurpub/13.suppl_1.29
- Ziegler, E. E. (2011). Meeting the nutritional needs of the low-birth-weight infant. *Ann Nutr Metab*, *58* Suppl 1, 8-18. doi:10.1159/000323381

Ziegler, E. E. (2014). Human milk and human milk fortifiers. *World Rev Nutr Diet*, 110, 215-227. doi:10.1159/000358470

7 Anhang

7.1 Eichkurven

Die numerische Bezeichnung der Zielsubstanz gibt die spezifische m/z des diagnostischen Fragments an.

Pyrimidinbasen

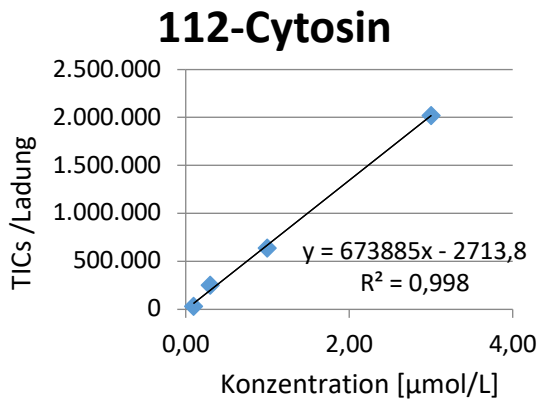


Abbildung 36: Eichkurve 112-Cytosin

Die Werte von 112-Cytosin waren ab einer Konzentration von 0,1 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

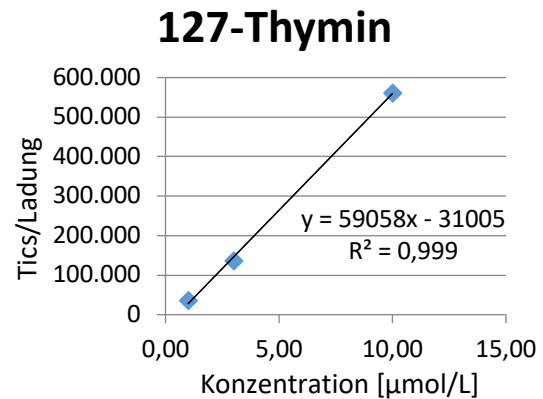


Abbildung 37: Eichkurve 127-Thymin

Die Werte von 127-Thymin waren ab einer Konzentration von 1,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

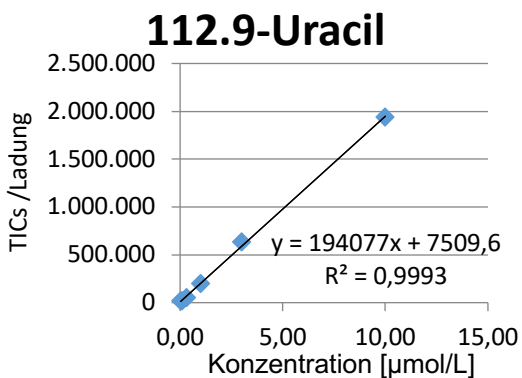


Abbildung 38: Eichkurve 112.9-Uracil

Die Werte von 112.9-Uracil waren ab einer Konzentration von 0,03 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

Pyrimidinderivate

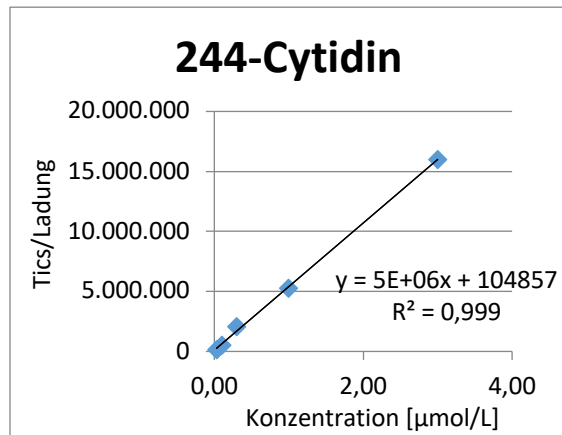


Abbildung 39: Eichkurve 244-Cytidin

Die Werte von 244-Cytidin waren ab einer Konzentration von 0,03µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

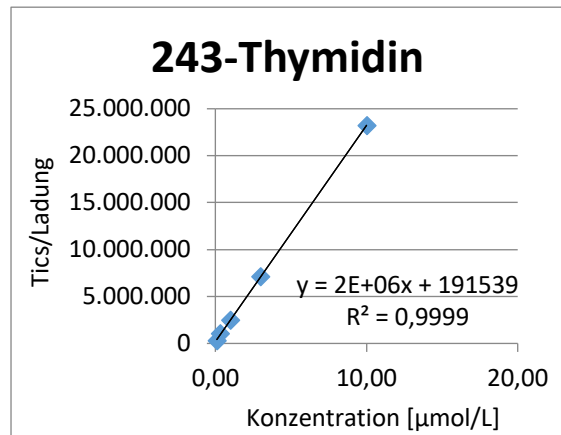


Abbildung 40: Eichkurve 243-Thymidin

Die Werte von 243-Thymidin waren ab einer Konzentration von 0,1µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

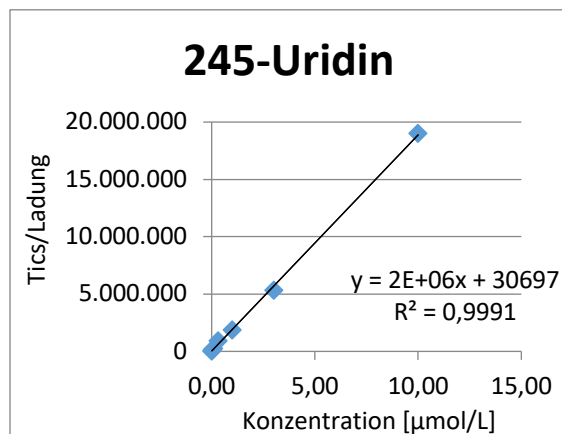


Abbildung 41: Eichkurve 245-Uridin

Die Werte von 245-Uridin waren ab einer Konzentration von 0,01µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

Purinbasen

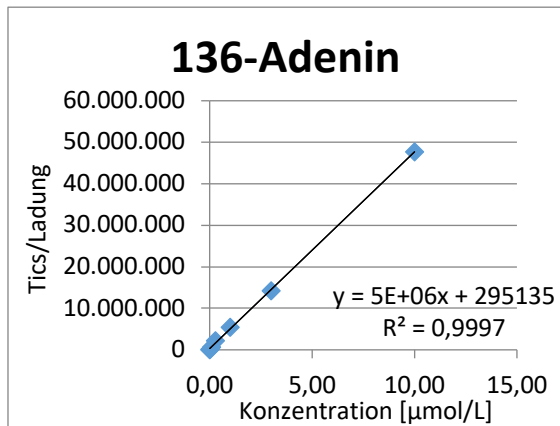


Abbildung 42: Eichkurve 136-Adenin

Die Werte von 136-Adenin waren ab einer Konzentration von 0,03 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

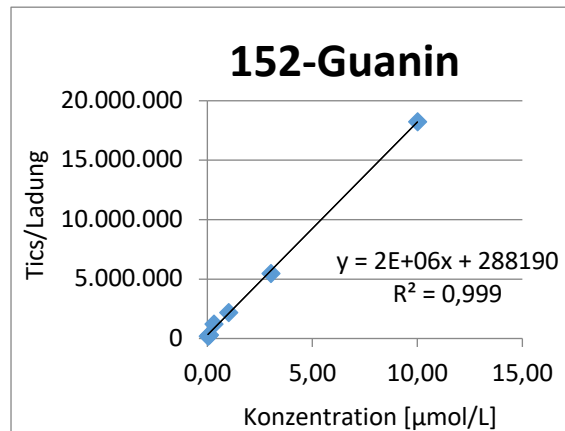


Abbildung 43: Eichkurve 152-Guanin

Die Werte von 152-Guanin waren ab einer Konzentration von 0,03 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

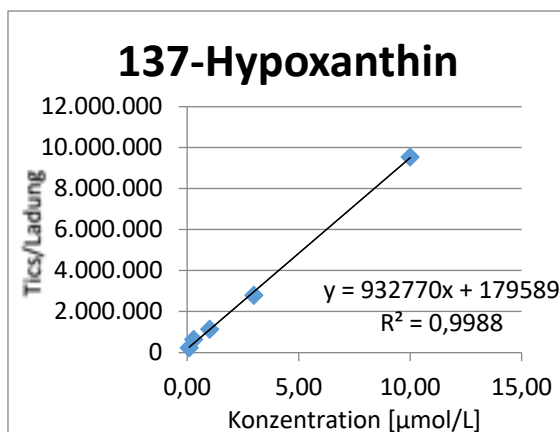


Abbildung 44: Eichkurve 137-Hypoxanthin

Die Werte von 137-Hypoxanthin waren ab einer Konzentration von 0,1 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

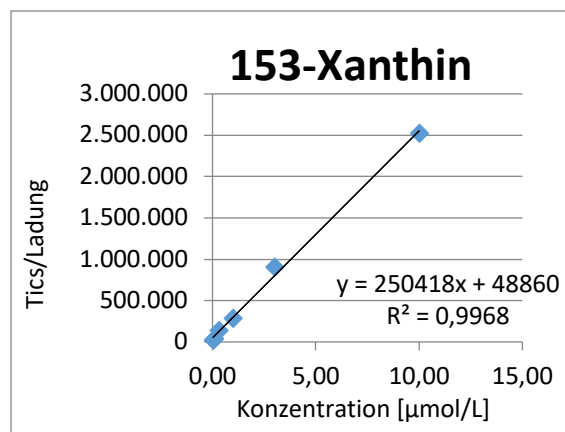


Abbildung 45: Eichkurve 153-Xanthin

Die Werte von 153-Xanthin waren ab einer Konzentration von 0,03 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

Purinderivate

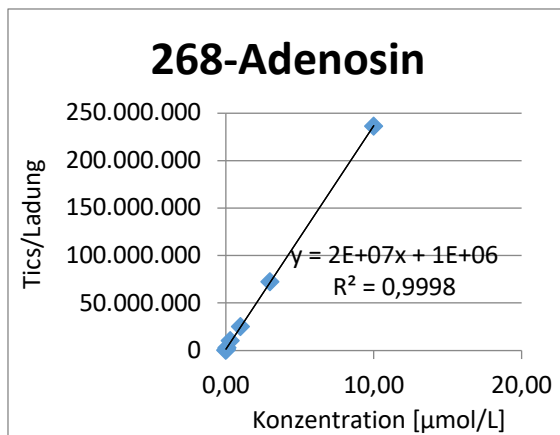


Abbildung 46: Eichkurve 268-Adenosin

Die Werte von 268-Adenosin waren ab einer Konzentration von 0,01µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

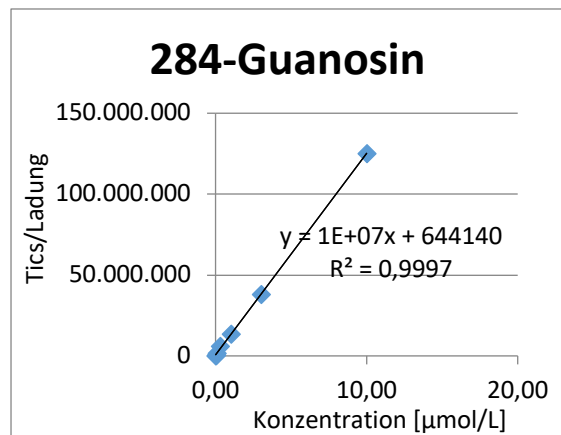


Abbildung 47: Eichkurve 284-Guanosin

Die Werte von 284-Guanosin waren ab einer Konzentration von 0,01µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

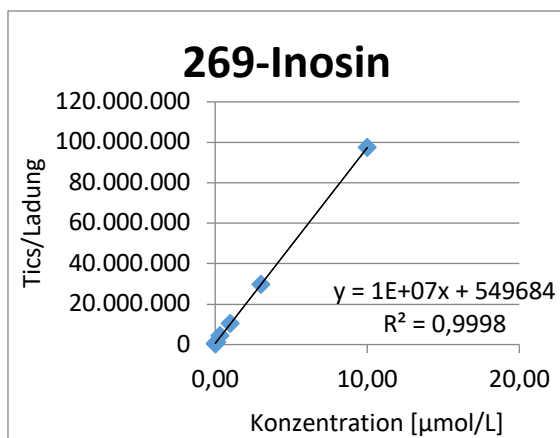


Abbildung 48: Eichkurve 269-Inosin

Die Werte von 269-Inosin waren ab einer Konzentration von 0,01µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

Nukleotide / Nukleomonophosphate

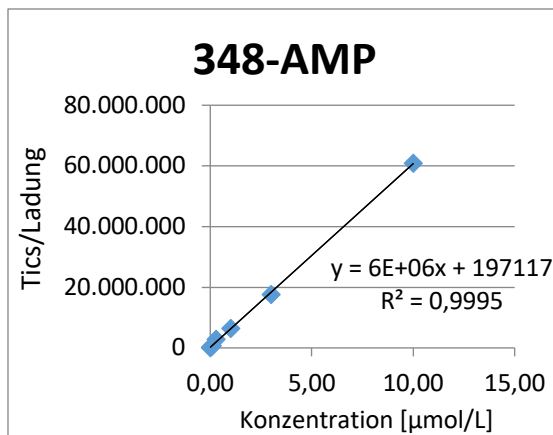


Abbildung 49: Eichkurve 348-AMP

Die Werte von 348-AMP waren ab einer Konzentration von $0,01\mu\text{mol/L}$ detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

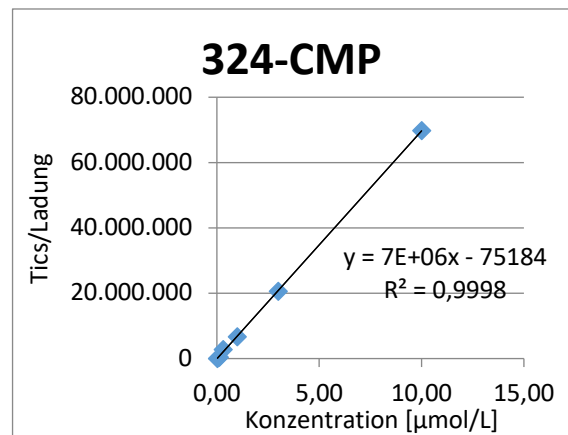


Abbildung 50: Eichkurve 324-CMP

Die Werte von 324-CMP waren ab einer Konzentration von $0,03\mu\text{mol/L}$ detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

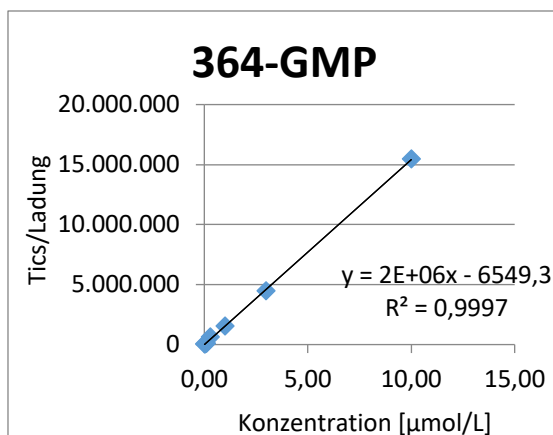


Abbildung 51: Eichkurve 364-GMP

Die Werte von 364-GMP waren ab einer Konzentration von $0,01\mu\text{mol/L}$ detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

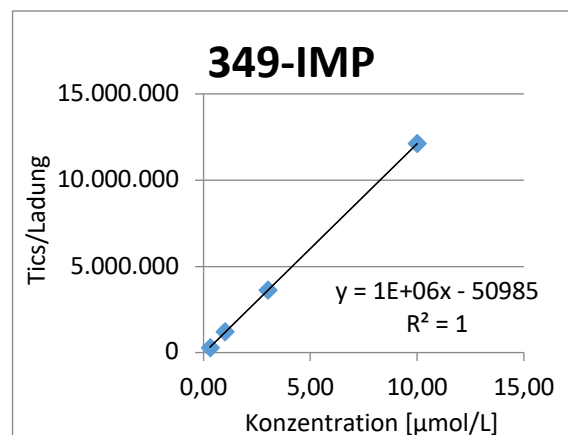


Abbildung 52: Eichkurve 349-IMP

Die Werte von 349-IMP waren ab einer Konzentration von $0,3\mu\text{mol/L}$ detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

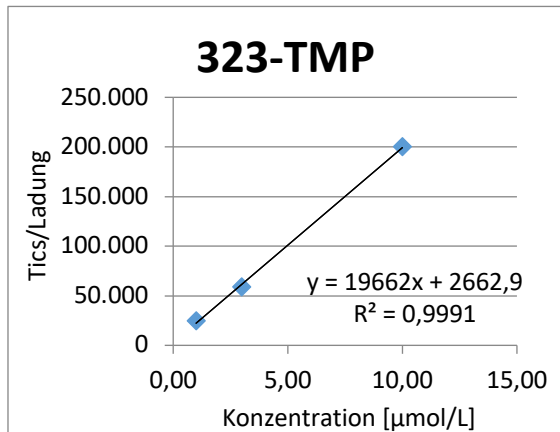


Abbildung 53: Eichkurve 323-TMP

Die Werte von 321-TMP waren bis zu einer Konzentration von 1,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

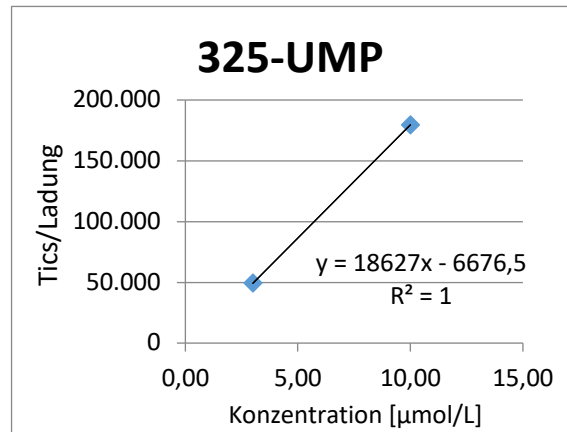



Abbildung 54: Eichkurve 325-UMP

Die Werte von 325-UMP waren bis zu einer Konzentration von 3,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

7.2 Aufklärungsbogen

**Universitätsklinikum
Tübingen**

Kinderklinik Tübingen
Abteilung IV, Neonatologie
Prof. Dr. med. C. F. Poets
Calwerstraße 7
72076 Tübingen

Ansprechpartner
Dr. med. Michaela Minarski
Tel. 07071 29-82621 (Pforte UFK)
Fax 07071 29-3969 (Sekretariat Neonatologie)
m.minarski@med.uni-tuebingen.de
Dr. med. Katrin Böckmann
Tel. 07071 29-82621 (Pforte UFK)
Fax 07071 29-3969 (Sekretariat Neonatologie)
k.boeckmann@med.uni-tuebingen.de
Prof. Dr. med. Axel Franz
Leitung CPSC und Resort II – Planung
Tel. 07071 29-83791
Fax 07071 29-5923
Axel.Franz@med.uni-tuebingen.de

Beobachtungsstudie zur Versorgung Reif- und Frühgeborener mit ausgewählten Mikronährstoffen

Information für die Sorgeberechtigten (Version 4.0. 25.03.2020)

Liebe Eltern und Sorgeberechtigte,

wir möchten Sie bitten, Ihr Neugeborenes an einer Beobachtungsstudie teilnehmen zu lassen. Die folgenden Seiten sollen Sie eingehend über die geplante Studie informieren und Ihnen helfen, die Entscheidung über die Teilnahme Ihres Kindes zu treffen.

Die Abteilung Neonatologie der Universitäts-Kinderklinik Tübingen führt eine Untersuchung zur Versorgung von Neugeborenen und insbesondere Frühgeborenen mit bestimmten Nährstoffen durch, die für die normale Entwicklung notwendig sind und bisher bei der Ernährung Frühgeborener unzureichend beachtet wurden.

Seite 1 von 4

Universitätsklinikum Tübingen Anstalt des öffentlichen Rechts, Sitz Tübingen Steuernr.: 86152/09492 USt-Id.-Nr. DE 146 889 674 Grotzweg 3 72076 Tübingen Tel. +49 7071 29-0 www.med.uni-tuebingen.de	Aufsichtsrat Ulrich Steinbüchel (Vorsitzender) Vorstand Prof. Dr. Michael Bamberg (Vorsitzende) Gabriele Sonntag (Dahm, Vorsitzende) Prof. Dr. Axel Ulrich Bartsch (Mitglied) Prof. Dr. Ingo S. Achenbach Klaus Fischer	Banken Baden-Württembergische Bank Stuttgart: (BLZ 620 501 001) Konto-Nr. 7437 5037 93 IBAN: DE 44 6205 0030 7437 5037 93 BIC: BWIFF333 Kreissparkasse Tübingen: (BLZ 642 500 20) Konto-Nr. 34 144 IBAN: DE 79 6416 5000 3000 5042 44 BIC: KWIFF333
--	--	--

Elterninformation-Mikronährstoffstudie, Version 4

Die Untersuchung soll helfen, eine unzureichende Versorgung von Neu- und insbesondere Frühgeborenen zu erkennen und ggf. durch Anreicherung der Nahrung zukünftig zu vermeiden. Dies ist wichtig, da eine Mangelversorgung zu Entwicklungsstörungen der Kinder beitragen könnte. Im Mittelpunkt der Untersuchung stehen zunächst die Mikronährstoffe Pyrimidine und Purine, welche im Nabelschnurblut, im Blut der Kinder und Mütter sowie in Muttermilch bestimmt werden sollen. Pyrimidine und Purine sind Grundbausteine des Erbgutes und sind außerdem an der Aktivierung von Stoffwechselprozessen beteiligt. Sie scheinen das Wachstum, die Darmflora und das Immunsystem positiv zu beeinflussen. Nucleotide sind in Muttermilch und in geringererem Maße schon heute in Neu- und Frühgeborenen Ersatznahrung enthalten.

Ziele dieser Untersuchung sind:

- 1) die Konzentrationen dieser Stoffe im Nabelschnurblut zu bestimmen, um so etwas über die vorgeburtliche Versorgung über die Mutter zu erfahren, die als Vorbild für die nachgeburtliche Versorgung gelten mag.
- 2) die Konzentrationen dieser Stoffe in Restblutungen von klinisch notwendigen Blutentnahmen bei Früh- und Neugeborenen (die sonst im Labor verworfen werden) zu bestimmen. Der Vergleich dieser Konzentrationen soll uns zeigen, ob die gegenwärtige Ernährung Frühgeborener ebenso gut ist, wie die im Mutterleib.
- 3) Durch die Messung der Nährstoffkonzentration in der Muttermilch Informationen zu der tatsächlichen Versorgung der Früh- und Neugeborenen mit diesen Nährstoffen zu erheben.
- 4) Durch die Messung der Nährstoffkonzentrationen im Blut der Mutter zusätzliche Informationen zur vorgeburtlichen Versorgung zu erlangen.

Wer kann teilnehmen?
Mütter (und deren Kinder), die an der Universitätsfrauenklinik entbinden, werden gebeten an dieser Studie teilzunehmen.

Was passiert in der Studie?
Beim Kind werden **keine studienbedingten Blutentnahmen durchgeführt**, sondern nur Restblutungen verwendet, die sonst weggeworfen werden würden, bzw. im Rahmen einer klinisch bedingten Blutentnahme 0,2ml Blut zusätzlich abgenommen, es entsteht **kein** Studienbedingter Nadelstich; Dies sind:
1.) Nabelschnurblutreste, die sonst nach der Geburt mit der Plazenta weggeworfen worden wären und
2.) max. 3 Blutproben a 0,2ml, im Rahmen einer klinisch indizierten Blutentnahme

Wir bitten Sie außerdem, solange Ihr Kind in der Klinik ist, an einem Tag pro Woche 1 ml Muttermilch pro Mahlzeit des Kindes für bis zu 8 Wochen nach der Geburt Ihres Kindes abzugeben.

Zusätzlich bitten wir Sie: Ihnen einmalig Blut abnehmen zu dürfen.

Die Teilnahme ist somit mit keinerlei Belastung oder Risiko für Ihr Kind verbunden. Die studienbedingt abgenommene Blutmenge ist im Vergleich zum Blutvolumen vernachlässigbar und führt sicher nicht zu einem gesteigerten Transfusionsbedarf.

Bei Ihnen erfolgt lediglich eine Blutentnahme (maximal 2,4 ml). Komplikationen sind hierbei extrem selten. Selten treten Blutergüsse und Infektionen im Bereich der Einstichstelle auf. Stärkere Blutungen infolge einer Verletzung von Blutgefäßen, die einer Behandlung bedürfen, sowie vorübergehende oder bleibende Nervenschäden (z.B. Missempfindungen, Berührungsempfindlichkeit, Taubheitsgefühl,

Seite 2 von 4

Elterninformation-Mikronährstoffstudie, Version 4

Bewegungsstörungen, Schmerzen) sind selten. Infektionen, die zu einer lebensgefährlichen Blutvergiftung (Sepsis) führen, und chronische Schmerzen oder bleibende Lähmungen nach Nervenverletzung, Blutergüssen oder Entzündungen sind extrem selten.

In Nabelschnurblut, im Blut der Kinder und Mütter, sowie in der Muttermilch sollen die Konzentrationen von Pyrimidinen und Purinen, und in Zukunft eventuell weiterer Mikronährstoffe, die für die Ernährung und die Entwicklung Früh- und Neugeborener

Verbleibende Blut-/Plasma- und Muttermilchproben sollen maximal 10 Jahre im Labor der Neonatologie aufbewahrt werden.

Datenschutz:
Im Rahmen der Studie werden personenbezogene Daten (Namen, Geburtstag, Adresse, Vorfunde, studienbezogene Befunde einschließlich bildgebender Verfahren, Ergebnisse studienbezogener genetischer Untersuchungen u.a.) erhoben und verarbeitet.
In die Verarbeitung werden, soweit erforderlich, auch Ihre Krankheitsdaten einbezogen. Die Dokumentation Ihrer Daten und deren Archivierung erfolgt pseudonymisiert in einer geschützten elektronischen Datenbank, zu der nur befugte Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter einschließlich auf das Berufs- und Datengeheimnis verpflichteter Doktorandinnen und Doktoranden Zutritt haben. Zur Überprüfung der korrekten Übertragung der Behandlungsdaten aus Ihrer Krankenakte in die verschlüsselte Studiendatenbank dürfen bevollmächtigte Personen (sogenannte Monitore) Einblick in die persönlichen Krankheitsdaten nehmen, die mit der Studie im Zusammenhang stehen. Alle beteiligten Mitarbeiter unterliegen der Schweigepflicht.
Die im Rahmen der Studie erhobenen Daten können auch für künftige Forschungsvorhaben der Klinik bzw. des Instituts genutzt und weiterverarbeitet werden.
Die Verarbeitung und Nutzung der pseudonymisierten Daten erfolgt auf Erhebungsbögen und elektronischen Datenträgern im Regelfall für die Dauer von 10 Jahren, soweit der Zweck der Studie, z. B. bei Einbringung in eine Datenbank und bei Langzeitstudien keine längere Speicherdauer erfordert.
Die im Verlauf dieser Studie gewonnenen Informationen können für wissenschaftliche Zwecke auch an Kooperationspartner im Geltungsbereich der Europäischen Datenschutz- Grundverordnung und an Kooperationspartner außerhalb des Europäischen Wirtschaftsraumes, d.h. in Länder mit geringerem Datenschutzniveau (dies gilt auch für die USA) übermittelt werden. Soweit Ihre Daten in Länder mit geringerem Datenschutzniveau übermittelt werden, wird der Verantwortliche alle erforderlichen Maßnahmen treffen, um das Datenschutzniveau zu gewährleisten. Sollte dies nicht möglich sein, werden Ihre Daten lediglich dann übermittelt, wenn Sie in die vorgeschlagene Datenübermittlung ausdrücklich einwilligen, nachdem Sie über die für Sie bestehenden möglichen Risiken einer derartigen Datenübermittlung unterrichtet wurden.
Die Forschungsergebnisse aus der Studie werden in anonymisierter Form in Fachzeitschriften oder in wissenschaftlichen Datenbanken veröffentlicht. Bei der Veröffentlichung der Forschungsergebnisse wird Ihre Identität nicht bekannt. Die Prüfarzte vor Ort können jedoch mit Hilfe einer Patientliste bei Rückfragen die Daten zu Ihrer Person zurückführen.
Sie können jederzeit Auskunft über Ihre gespeicherten Daten anfordern sowie die Überlassung einer kostenlosen Kopie verlangen und haben das Recht, fehlerhafte Daten berichtigen zu lassen. Sie können auch jederzeit verlangen, dass Ihre Daten gelöscht oder anonymisiert werden, so dass ein Bezug zu Ihrer Person nicht mehr hergestellt werden kann. Diese Rechte sind nach § 13 des Landesdatenschutzgesetzes bzw. § 27 des Bundesdatenschutzgesetzes insoweit beschränkt, als diese Rechte voraussichtlich die Verwirklichung der jeweiligen Forschungszwecke unmöglich machen oder ernsthaft beeinträchtigen und die Beschränkung für die Erfüllung der jeweiligen Forschungszwecke notwendig ist. Das Recht auf Auskunft besteht darüber hinaus nicht, wenn die Daten für Zwecke der wissenschaftlichen Forschung erforderlich sind und die Auskunftserteilung einen unverhältnismäßigen Aufwand erfordern würde.

Seite 3 von 4

Elterninformation-Mikronährstoffstudie, Version 4

Der Studienleiter/die Studienleiterin (Prof. Dr. Axel Franz, Universitätskinderklinik Tübingen, Abteilung IV, Calwerstraße 7, 72076 Tübingen) ist für die Datenverarbeitung und die Einhaltung der gesetzlichen Datenschutzbestimmungen verantwortlich.

Bei Beschwerden können Sie sich an den Datenschutzbeauftragten des Universitätsklinikums Tübingen oder den Landesdatenschutzbeauftragten des Landes Baden-Württemberg wenden.
Für die Erhebung, Speicherung, Nutzung und Weitergabe Ihrer Daten ist Ihre ausdrückliche Zustimmung durch Unterzeichnung der Einwilligungserklärung zum Datenschutz erforderlich.
Rechtsgrundlage für die Verarbeitung Ihrer Daten sind Art. 6, 7, 9, 89 der Datenschutz- Grundverordnung in Verbindung mit §§ 4, 5, 6, 8, 9, 12, 13 des Landesdatenschutzgesetzes Baden-Württemberg in der ab 25. Mai 2018 geltenden Fassung.

Besteht ein Nutzen für die Studienteilnehmer?
Nein, die Studienteilnehmer werden selbst nicht direkt von der Teilnahme an der Studie profitieren.

Möglicher Nutzen für zukünftige Patienten
Studie bietet die Chance, die Ernährung und damit möglicherweise die Entwicklung neugeborener und insbesondere frühgeborener Kinder zu verbessern.

Die Studie wurde genau geprüft und bewilligt
Die Ethikkommission hat das Studienprotokoll und diese Informationsmaterialien geprüft und die Prüfarzte berufsrechtlich beraten.

Die Teilnahme an dieser Studie ist selbstverständlich freiwillig.
Sie werden gebeten, eine Einwilligungserklärung zu unterzeichnen und damit auch zu bestätigen, dass Sie vollständig über die Studie informiert wurden und deren Zielsetzung verstehen. Sollten Sie die Teilnahme an der Studie ablehnen, so werden weder Sie noch Ihr Kind davon einen Nachteil haben. Auch würde diese Entscheidung keinen Einfluss auf Ihr Verhältnis zum Arzt Ihres Kindes oder dem Pflegepersonal haben. Ihr Kind wird weiterhin die bestmögliche Therapie erhalten.

Sie können jederzeit die Studie verlassen
Auch wenn Sie zugestimmt haben, dass Ihr Kind an dieser Studie teilnehmen darf, so können Sie trotzdem jederzeit Ihre Zustimmung ohne Angabe von Gründen zurückziehen. Diese Entscheidung würde keine Nachteile auf die Behandlung Ihres Kindes oder auf Ihre eigene Beziehung zum Pflegepersonal und den Ärzten haben. In diesem Fall würden die Daten gelöscht und die gesammelten Blutproben vernichtet.
Sie werden über die Studienergebnisse informiert. Bei Änderungen bezüglich der Studie werden Sie erneut um Ihre Zustimmung gebeten.

Weitere Fragen
Sollten Sie weitere Fragen bezüglich der Studie haben, so wenden Sie sich bitte jederzeit an uns, die Ihr Kind betreuenden lokalen Prüfarzte:

Dr. Katrin Böckmann Dr. Michaela Minarski Prof. Dr. Axel Franz Prof. Dr. Christian F. Poets

Universitäts-Kinderklinik Tübingen
Abt. Neonatologie, Calwerstraße 7, 72076 Tübingen

Seite 4 von 4

7.3 Einverständniserklärung

Einwilligungserklärung zur Studienteilnahme und Erklärung zum Datenschutz

an der klinischen Studie mit dem Titel

Beobachtungsstudie zur Versorgung Reif- und Frühgeborener mit ausgewählten Mikronährstoffen

(Version 4.0 – 25.03.2019)

Ich, die Mutter von _____
(Name des Patienten in Blockschrift)

erkläre:

1. dass ich die Elterninformation zur Durchführung der o.g. Studie gelesen haben und die Möglichkeit hatten Fragen zu besprechen,
2. dass ich über die Ziele, die Dauer und den Ablauf der Studie aufgeklärt wurden, und dass die Studie nicht mit zusätzlichen Risiken für mein Kind verbunden ist,
3. dass darüber informiert wurde, dass die Teilnahme an der Untersuchung vollkommen freiwillig ist und dass das Einverständnis jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile widerrufen werden kann,

Datenschutz:

Ich erkläre, dass ich mit der im Rahmen der Studie erfolgenden Erhebung und Verarbeitung von Daten und ihrer verschlüsselten (pseudonymisierten) Weitergabe einverstanden bin.

Ich stimme zu, dass bevollmächtigte Personen zum Zwecke der Überprüfung der Daten Einblick in meine persönliche Krankenakte nehmen dürfen und entbinde den behandelnden Arzt insoweit von seiner ärztlichen Schweigepflicht.

Mir ist bewusst, dass die Ergebnisse dieser Studie in medizinischen Fachzeitschriften veröffentlicht werden, allerdings in anonymisierter Form, so dass ein direkter Bezug zu meiner Person nicht hergestellt werden kann.

Ich wurde darüber informiert, dass ich jederzeit Auskunft über meine gespeicherten Daten und die Berichtigung von fehlerhaften Daten verlangen kann.

Ich weiß, dass ich jederzeit, beispielsweise beim Widerruf der Studienteilnahme, verlangen kann, dass meine bis dahin erhobenen Daten gelöscht oder unverzüglich anonymisiert werden.

Ich erkläre, dass ich über die Erhebung und Verarbeitung meiner in dieser Studie erhobenen Daten und meine Rechte angemessen informiert wurde.

Ich stimme der Verwendung der im Rahmen dieser Studie erhobenen Daten in der oben (oder in der Information zum Datenschutz) beschriebenen Form zu.

Kontaktinformationen:

Datenschutzbeauftragter des Universitätsklinikums Tübingen

Calwerstraße 7/4, 72076 Tübingen,

Tel. 07071 29-87667, E-Mail: dsb@med.uni-tuebingen.de

Landesbeauftragter für den Datenschutz und die Informationsfreiheit in Baden-Württemberg

Postanschrift: Postfach 10 29 32, 70025 Stuttgart

Tel.: 0711/615541-0, FAX: 0711/615541-15, E-Mail: poststelle@fdi.bwl.de

Ich bin mit der Teilnahme meines Kindes an der Untersuchung einverstanden

_____	_____	_____
(Datum)	(Name der Mutter)	(Unterschrift der Mutter)
_____	_____	_____
(Datum)	(aufklärender Arzt/med. Doktorand)	(Unterschrift des Arztes/med. Doktoranden)

Ich bin außerdem damit einverstanden, dass einmalig bei mir Blut abgenommen wird und wurde über die bestehenden Risiken, sowie über die Verwendung und Aufbewahrung der Blutproben aufgeklärt

_____	_____	_____
(Datum)	(Name der Mutter)	(Unterschrift der Mutter)
_____	_____	_____
(Datum)	(aufklärender Arzt/med. Doktorand)	(Unterschrift des Arztes/med. Doktoranden)

7.4 Mutter – Fragebogen

Basisbogen - Mikronährstoff- Studie

ID _____

Datum _____

Fragebogen für Mütter - Mikronährstoffstudie

Alter: _____

Vorerkrankungen der Mutter: _____

Medikamente der Mutter: _____

Gestationsdiabetes:

- Nein
- Ja
 - Diät
 - Insulin
 - Anderes Medikament

Nikotin in Stillzeit:

- Nein
- Ja

Essgewohnheiten der Mutter:

- Keine Einschränkungen
- Fisch
 - Ja
 - Nein
- Vegetarisch
 - Ovo-Lacto-Vegetarier (kein Fisch und Fleisch)
 - Ovo-Vegetarier (+keine Milchprodukte)
 - Lacto-Vegetarier (+keine Eier)
 - Pesco-Vegetarier (kein Fleisch aber Fisch)
- vegan
- Sonstiges: _____

Ernährungssupplementierung in Schwangerschaft:

- Jodiertes Speisesalz
- Jod Tabletten
- Folsäure
- Fembion 1
- Fembion 2
- Andere: _____
- andere Fischölpräparate
- Cholin
- Lecithin
- Neovin
- Neovin + DHA

Die Supplementierung wurde während der gesamten Schwangerschaft eingenommen:

- ja
- nein falls nein, wie lange: _____

Ernährungssupplementierung in der Stillzeit

- Jodiertes Speisesalz
- Jod Tabletten
- Folsäure
- Fembion 1
- Fembion 2
- Andere: _____
- andere Fischölpräparate
- Cholin
- Lecithin
- Neovin
- Neovin + DHA

Die Supplementierung wurde während der gesamten Stillzeit eingenommen:

- ja
- nein falls nein, wie lange: _____

7.5 Basisbogen – Mikronährstoffstudie II

Basisbogen - Mikronährstoff- Studie

ID _____

Datum _____

Basisbogen - Mikronährstoff-Studie

Allgemein:

Patienten ID: _____ Geburtsuhrzeit: _____

Geburt:

Modus :

- spontan
- Sectio
- vaginale Operation

APGAR: ____/____/____

Nabelarterien pH _____

Gestationsalter: _____

Geburtsgewicht: _____ Länge: _____ Kopfumfang: _____

Mehrlinge:

- nein
- Zwillinge
- Drillinge
- Monochorial
- Dichorial
- Trichorial
- Sonstige _____
- Fetofetales Transfusionssyndrom
 - Donor
 - Akzeptor

Ursachen der Frühgeburtlichkeit:

- HELLP
- path. CTG
- Präeklampsie/EPH-Gestose
- Unhemmbare Wehentätigkeit
- V.a. Amnioninfektionssyndrom
- Wachstumsretardierung/path. Doppler
- Sonstiges _____

Pränatale Therapie:

Pränatale Steroide:

- Nein
- Ja

Unterschrift:

Seite 1 von 2

7.6 Laborbogen – Mikronährstoffstudie II

Probenübersicht Patient _____

Probe	Datum	Uhrzeit	Lebenstag	Uhrzeit eingefroren	Probleme?	Unterschrift
Nabelschnur						
Mutter						
BE 1						
BE 2						
BE 3						

8 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

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

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. med. Axel Franz, Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. Wolfgang Bernhard und Frau Dr. med. Michaela Minarski.

Sämtliche Proben- und Datengewinnung erfolgten nach Einarbeitung durch Frau Dr. med. Minarski von mir in Zusammenarbeit mit Judith Wondzinski.

Sämtliche Probenextraktionen und Weiterverarbeitung der Plasma-Proben wurden nach Einarbeitung und unter Supervision durch Frau Anna Shunova im Labor von Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. Wolfgang Bernhard, Arbeitsgruppe Lipidstoffwechsel und Entwicklungsphysiologie, von mir eigenständig durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch Frau Dr. Minarski durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Wörtlich oder inhaltlich übernommen Quellen wurden als solche gekennzeichnet.

Tübingen, den 02.10.2024

Fee Rottach-Barnekow

9 Danksagung

Für das entgegengebrachte Vertrauen und die bereitwillige Mitarbeit möchte ich zuallererst allen Eltern danken, die sich zur Teilnahme an dieser Studie bereit erklärt haben.

Herrn Prof. Dr. Axel Franz danke ich neben dem interessanten Thema und dem mir entgegengebrachtem Vertrauen insbesondere aber für die tatkräftige und durchweg hilfreiche Betreuung.

Mein aufrichtiger Dank gilt meiner Betreuerin, Frau Dr. Michaela Minarski, für ihre außergewöhnlich geduldige und wohlwollende Unterstützung, ihren stetigen Zuspruch, die konstruktiven Korrekturen und Hilfestellungen sowie die nötige Motivation in mühsamen Zeiten.

Zudem bedanke ich mich bei den Mitarbeitenden der Neonatologie Tübingen und der Universitätsfrauenklinik Tübingen für die Bereitschaft zur Mitarbeit, Mithilfe und Zusammenarbeit. Insbesondere danke ich Frau Dr. Katrin Böckmann für ihr tatkräftiges Mitwirken und guten Zuspruch während der klinischen Ausführung der Studie.

Mein herzlicher Dank gilt Prof. Dr. Dr. Wolfgang Bernhard und der gesamten Arbeitsgruppe *Neonatale Ernährung und Entwicklung* für die Bereitstellung des Labors, des Equipments und des notwendigen Hintergrundwissens. Besonderer Dank geht an Anna Shunova für ihre umfassende Unterstützung während der experimentellen Arbeiten im Labor und darüber hinaus. Ihre unermüdliche Hilfsbereitschaft und ihr Engagement, mir die Laborarbeit zu vermitteln, haben entscheidend zum Gelingen des experimentellen Teils dieser Promotion beigetragen.

Abschließend möchte ich meinen aufrichtigen Dank meinen Eltern und meinem Ehemann aussprechen. Meinen Eltern für ihren unermüdlichen Beistand und Zuspruch, insbesondere dafür, dass sie mir das Medizinstudium ermöglicht haben und mich in jeder Lebenslage unterstützen. Und meinem Ehemann, der sich bereitwillig in die Thematik eingedacht hat und mir damit nicht nur fachlich, sondern vor allem emotional eine unvergleichliche Stütze war – danke!