

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Einfluss mütterlicher DHA-Plasmakonzentrationen während der Schwangerschaft auf
das Gehirnvolumen des Kindes bei der Geburt**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Leonie Rosemarie Klaumünzer

aus Berlin

Datum der Promotion: 3. März 2023

Inhaltsverzeichnis

Abstract Deutsch	5
Abstract Englisch	7
1. Einleitung	9
1.1 Funktion des DHAs in der neuronalen Entwicklung- Grundlagenforschung	11
1.2 DHA-Funktion in der kindlichen Gehirnentwicklung- klinische Studien	12
1.3 DHA-Stoffwechsel und-Transport in der Schwangerschaft.....	14
2. Material und Methodik	18
2.1 Ein-und Ausschlusskriterien der Studienpopulation	18
2.2 Ermittlung der Kovariaten und soziodemografischen Faktoren der Studienpopulation.....	19
2.3 Analyse der Fettsäure-Konzentrationen im mütterlichen Plasma	19
2.4 Ermittlung der neonatalen Gehirnvolumina mittels MRT	20
2.5 Statistische Auswertung der Ergebnisse	23
2.6 Kovariaten	23
2.7 Ergänzung fehlender mütterlicher DHA-Konzentrationen anhand multipler Imputation	25
2.8 Geschlechts-Moderation der Assoziation zwischen mütterlicher Fettsäure- Konzentration und Kindlichem Gehirnvolumen	25
3. Ergebnisse	26
3.1 Beschreibung der Studien-Drop-outs	26
3.2 Charakteristika der Studienpopulation	27
3.3 Charakteristika von Prädiktor und Outcome	29
3.4 Assoziation zwischen mütterlicher DHA-Konzentrationen und dem Volumen der grauen Substanz ihres Neugeborenen	30
3.5 Assoziation zwischen mütterlicher DHA-Konzentrationen und dem Volumen des rechten und des linken Hippocampus ihres Neugeborenen	32
3.6 Einfluss des kindlichen Geschlechts auf die Assoziation zwischen mütterlicher DHA- Konzentration und dem Gehirnvolumen ihres Neugeborenen	35

4. Diskussion	36
5. Zusammenfassung	46
6. Literaturverzeichnis	49
Eidesstattliche Erklärung	57
Lebenslauf	58
Danksagung	61

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Synthese von DHA: Oxidationsprozesse im Endoplasmatischen Retikulum und Peroxisom	10
Abbildung 2: Prozentualer Anteil von Fettsäuren in mütterlichen Geweben, in der Plazenta und in fötalen Geweben	16
Abbildung 3: Segmentierungsbeispiel eines Neugeborenen-Gehirns	22
Abbildung 4: Studienpopulation und Drop-out	27

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Korrelation zwischen den Gehirnvolumina	24
Tabelle 2. Soziodemographische und klinische Charakteristika der Schwangeren	28
Tabelle 3. Klinische Charakteristika der Kinder	29
Tabelle 4. Gestationsalter bei den Blutentnahmen und Omega-3-Fettsäure- Konzentrationen aus dem Blutplasma	29
Tabelle 5. Alter des Kindes beim MRT-Scan und Gehirnvolumina der Neugeborenen.....	30
Tabelle 6. Korrelationen zwischen den einzelnen Trimestern (T1, T2, T3) der Fettsäurekonzentrationen (LPC und NEFA)	20

Diagrammverzeichnis

Diagramm 1. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration

(NEFA 22.6) und dem Volumen der grauen Substanz (GMV).....	31
Diagramm 2. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (LPC 22.6) und dem Volumen der grauen Substanz (GMV).....	32
Diagramm 3. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (NEFA 22.6) und dem Volumen des rechten Hippocampus (RHV).....	33
Diagramm 4. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (LPC 22.6) und dem Volumen des rechten Hippocampus (RHV).....	33
Diagramm 5. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (NEFA 22.6) und dem Volumen des linken Hippocampus (LHV).....	34
Diagramm 6. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (LPC 22.6) und dem Volumen des linken Hippocampus (LHV).....	34

Abstract

Hintergrund: Das Forschungsfeld der fötalen Programmierung befasst sich mit mütterlichen Einflussfaktoren, die während der Embryonalzeit die Gesundheit des Kindes langfristig verändern. In diesem Forschungsfeld haben Nährstoffe, wie die Omega-3-Fettsäure DHA (Docosaheaxaensäure), aufgrund ihres Einflusses auf die neuronale Entwicklung immer weiter an Aufmerksamkeit gewonnen. In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass Kinder von Müttern mit einer DHA-reichen Ernährung während der Schwangerschaft eine bessere motorische und kognitive Entwicklung aufweisen. Omega-3-Fettsäuren wird eine tragende Funktion im Aufbau von neuronalen Membranen und Synapsen, sowie eine anti-apoptotische Wirkung zugeschrieben. Zudem sind Omega-3-Fettsäuren essentiell, das heißt, sie müssen über die Nahrung aufgenommen werden. Demnach ist der Fötus in seiner DHA-Aufnahme vollständig vom DHA-Gehalt der Mutter abhängig. In der Ernährung der heutigen westlichen Welt hat sich das Verhältnis von Omega-3- zu Omega-6-Fettsäuren stark zu Gunsten der Omega-6-Fettsäuren verschoben. Die Vermutung liegt nahe, dass eine an DHA mangelnde Ernährung der Mutter während der Schwangerschaft möglicherweise einen negativen Einfluss auf die neuronale Entwicklung des Kindes haben kann. Diese Arbeit untersucht, ob die mütterliche DHA-Plasmakonzentration während der Schwangerschaft mit dem Gehirnvolumen der grauen Substanz und des Hippocampus des Kindes bei der Geburt korrelieren.

Methode: Es wurde eine prospektive Studie mit einer Studienpopulation von 63 Müttern und deren Neugeborenen durchgeführt. In jedem Schwangerschaftstrimester erfolgte eine Blutentnahme bei den Müttern und die DHA-Konzentrationen (LPC 22:6 und NEFA 22:6) im Blutplasma der Mütter wurden anhand eines speziellen Massenspektrometrie-Verfahrens bestimmt. Möglichst früh nach der Geburt wurde ein cMRT des neugeborenen Kindes durchgeführt. Es erfolgte die Segmentierung der MRT-Bilder in die graue Substanz und in das rechte sowie linke hippocampale Volumen.

Ergebnis: Es zeigte sich keine Assoziation zwischen den mütterlichen DHA-Konzentrationen während der Schwangerschaft und dem Volumen der grauen Substanz (NEFA 22:6 $T=-0,668$, $\beta=-0,3$, $p=0,504$; LPC 22:6 $T=-0,070$, $\beta=0,004$, $p=0,945$) oder des rechten (NEFA 22:6 $T=-$

0,116, $\beta=-0,009$, $p=0,908$; LPC 22:6 $T=0,354$, $\beta=0,035$, $p=0,724$) bzw. linken Hippocampus ihres Neugeborenen (NEFA 22:6 $T=-0,609$, $\beta=-0,06$, $p=0,542$; LPC 22:6 $T=-0,443$, $\beta=-0,038$, $p=0,658$).

Zusammenfassung: Der heutigen Kenntnis nach, ist dies die erste MRT-Studie, die den Zusammenhang zwischen mütterlicher DHA-Plasmakonzentration während der Schwangerschaft und dem Gehirnvolumen des neugeborenen Kindes untersucht. Im Gegensatz zu den meisten bisherigen Ergebnissen, konnte in dieser Studie keine Assoziation zwischen DHA-Plasmakonzentrationen der Mutter während der Schwangerschaft und dem Gehirnvolumen des Kindes gefunden werden. Die geringe Probandenzahl ($N=63$) und die Komplexität des Fettsäure-Stoffwechsels schränken jedoch die Aussagekraft der Studie ein.

Abstract

Background: The current theory of Fetal Programming emphasises the importance of early factors that can influence health and disease in a lifelong perspective. In this field of research, maternal nutrients such as omega-3 fatty acids, especially docosahexanoic acid (DHA), and their impact on fetal neurodevelopment gained unprecedented attention. Clinical studies indicate that children from mothers who had a DHA enriched diet during pregnancy show improved motor and cognitive performance in early life. Animal research and in vitro trials demonstrate that omega-3 fatty acids enhance synaptic structure and function, neuronal membrane morphology, and anti-apoptotic pathways of neuronal cells. Omega-3 fatty acids are essential nutrients which means that humans are unable to synthesize them de novo and that fetuses completely depend on the omega-3 intake of their mother. However, western diet is deficient in omega-3 fatty acids with an omega-3/omega-6 ratio that has been rapidly changing in favor to omega-6-fatty acids. It is possible that DHA deficiency during pregnancy has an adverse effect on fetal neurodevelopment. The aim of this study is to show whether there is an association between maternal DHA plasma concentrations during pregnancy and grey matter as well as left and right hippocampal volume of the child early after birth.

Methods: A prospective, clinical study was conducted in a sample of 63 mother-child-dyads. A special mass spectrometry technique was used to analyze the mother's DHA concentrations (LPC 22:6 and NEFA 22:6) during each pregnancy trimester. Structural magnetic resonance imaging was employed to characterize newborn grey matter, left hippocampal and right hippocampal brain volume.

Results: No associations were found between maternal DHA concentrations during pregnancy and grey matter volume (NEFA 22:6 $T=-0,668$, $\beta=-0,3$, $p=0,504$; LPC 22:6 $T=-0,070$, $\beta=0,004$, $p=0,945$), right hippocampal volume (NEFA 22:6 $T=-0,116$, $\beta=-0,009$, $p=0,908$; LPC 22:6 $T=0,354$, $\beta=0,035$, $p=0,724$) and left hippocampal volume of the newborn child (NEFA 22:6 $T=-0,609$, $\beta=-0,06$, $p=0,542$; LPC 22:6 $T=-0,443$, $\beta=-0,038$, $p=0,658$). We found no sex specific associations between the DHA concentrations and the child's brain volume.

Conclusion: To the best of our knowledge, this is the first clinical MRI-study to analyze the association between maternal DHA concentrations during pregnancy and the child's brain

volume soon after birth. In contrast to previous studies, no association was found between maternal DHA-concentrations and the brain volume of her child. However, conclusions from this study are limited because of the weak number of participants (N=63) and the complexity of DHA metabolism in the body.

Einleitung

Das Forschungsfeld der fötalen Programmierung befasst sich mit mütterlichen Einflussfaktoren, die während der Embryonalzeit die Gesundheit des Kindes langfristig verändern. Die Theorie besagt, dass, neben der individuellen genetischen Disposition und den postnatalen Umweltfaktoren, intrauterine Einflüsse zu einer Adaptation der Stoffwechsel- und Organfunktionen des Kindes führen und diese das gesamte Leben prägen. Veränderungen im kindlichen Organismus als Reaktion auf uterine Einflüsse geschehen auf Zellebene durch eine veränderte Mitochondrienfunktion, Synapsen- oder Rezeptorbildung, durch epigenetische Einflüsse auf die Genexpression, durch Veränderung der Struktur, Innervation und Vaskularisation von Organen oder durch den Eingriff in die hormonelle Homöostase [1]. Diese Einflüsse erhöhen das Risiko des Kindes, im Laufe des Lebens chronische Erkrankungen wie Adipositas, Diabetes mellitus, kardiovaskuläre und mentale Erkrankungen zu entwickeln [2]. Dem Forschungsfeld der fötalen Programmierung kommt in der klinischen Praxis somit eine große Bedeutung in der Entwicklung präventionsorientierter Konzepte zu. Wegen seiner schnellen Entwicklung und Vulnerabilität in Utero, ist das menschliche Gehirn zentraler Gegenstand dieser Forschung. Ein Faktor, der Struktur und Funktion des Gehirns verändern kann, ist die mütterliche Ernährung in der Schwangerschaft. Beispielsweise zeigen epidemiologische Daten aus dem irischen Hungerwinter 1944-1945, dass Kinder von Müttern, die während der Schwangerschaft mangelernährt waren, ein höheres Risiko für psychiatrische Erkrankungen wie Schizophrenie und Suchtmittelabhängigkeit haben [3, 4]. Auch eine Überernährung und eine fötale Makrosomie, z.B. durch einen maternalen Diabetes mellitus, stellt nicht nur einen Risikofaktor für Übergewicht und eine veränderte Glucosetoleranz beim Kind dar, sondern geht auch mit einer verminderten kognitiven Leistungsfähigkeit einher [5, 6]. Seit einigen Jahren rücken konkrete Nährstoffe in den Fokus der Forschung fötaler Programmierung. Dazu zählt beispielsweise Iod als wichtiger Bestandteil von Schilddrüsenhormonen und entscheidender Faktor für die kognitive Entwicklung des Kindes [7] oder Omega-3-Fettsäuren als struktureller Bestandteil menschlichen Nervengewebes. Omega-3-Fettsäuren sind vor allem in Phospholipide, Sphingolipide und Plasmalogene der Zellmembranen eingebaut und beeinflussen damit ihre Dicke und Flexibilität. Sie wirken sich auf den transmembranen Protein- und Organellentransport, sowie auf Signaltransduktionsmechanismen der Zelle aus. Ihr Hauptvertreter im Gehirn ist die

Docosahexaensäure [8] [9]. DHA gehört zu der Gruppe der langkettigen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LC PUFAS: long chained polyunsaturated fatty acids) und besteht aus 22 Kohlenstoffatomen mit 6 Doppelbindungen, daher die häufig angewandte Deklaration DHA 22:6.

DHA ist essentiell, das heißt, es muss über die Nahrung aufgenommen oder aus einer essentiellen Vorstufe, der alpha-Linolensäure (ALA: alpha linolenic acid), über Elongations- und Desaturierungsprozesse synthetisiert werden, siehe Abbildung 1. ALA ist in pflanzlichen Ölen wie Soja-, Weizen- und Leinsamenölen enthalten. Die Umwandlungsrate von ALA zu DHA ist von der Enzymaktivität abhängig, die zwischen 5% und 21% stark interindividuell variiert [10]. Im Fötus übersteigt die Konversionsrate von ALA zu DHA nicht 5%. Er ist demnach fast vollständig von der direkten mütterlichen DHA Zufuhr abhängig. Hohe DHA-Konzentrationen finden sich vor allem in Fischölen von Thunfisch (2280 mg/100g) und Lachs (2140 mg/100g). Pflanzliche Öle, wie Weizenöle und Sojaöle, enthalten vor allem ALA und nur einen geringen Anteil an DHA [11]. Im Forschungsfeld der fötalen Programmierung hat DHA in den letzten Jahren immer mehr an Relevanz gewonnen, da ihm eine positive Wirkung auf den Schwangerschaftsverlauf [12] sowie auf die kindliche Hirnentwicklung zugeschrieben wurde [13].

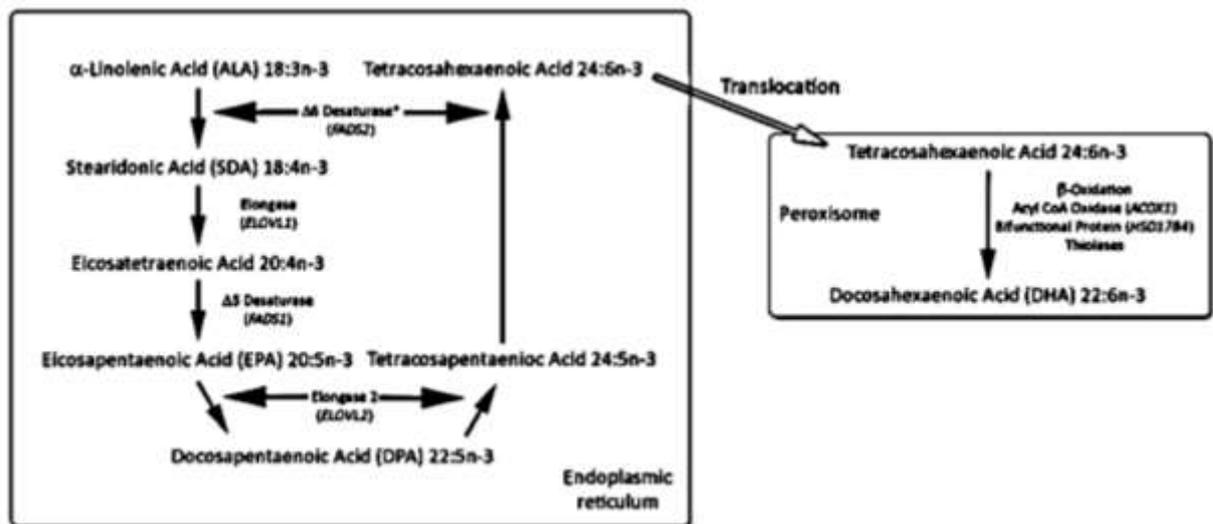


Abbildung 1: Synthese von DHA. Oxidationsprozesse im Endoplasmatischen Retikulum und Peroxisom. Abbildung von Dyall [14]

Die Ernährung der heutigen westlichen Welt ist vor allem durch eine erhöhte Aufnahme von gesättigten, trans- und Omega-6-Fettsäuren charakterisiert. Das Omega-3- zu Omega-6-Fettsäure-Verhältnis hat sich in den letzten Jahrzehnten stark zu Gunsten von Omega-6-Fettsäuren entwickelt [15]. Der Verlust von Omega-3-Fettsäuren im menschlichen Hirngewebe wird durch einen vermehrten Einbau von Omega-6-Fettsäuren kompensiert [16]. Es konnte gezeigt werden, dass Transfettsäuren mit Desaturierungs- und Elongierungsprozessen von Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren interferieren und deren Funktion limitieren [17]. Diese Erkenntnisse zeigen, dass ein Omega-3-Fettsäure-Mangel ein aktuelles Problem ist. Aber ob und inwieweit sich ein Mangel an Omega-3-Fettsäuren negativ auf die Gehirnentwicklung auswirkt, ist Gegenstand aktueller Forschung. Die deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) empfiehlt Schwangeren und Stillenden eine tägliche Aufnahme von 200 mg DHA pro Tag, dies entspricht 1-2 Seefischmahlzeiten in der Woche [18]. Doch auf der Basis welcher Forschungsergebnisse rührt diese Empfehlung?

1.1 Funktion des DHAs in der neuronalen Entwicklung- Grundlagenforschung

Der bisherige Stand der Forschung schreibt DHA funktionelle und strukturelle Aufgaben im Nervengewebe zu. Bisher entstammen die Erkenntnisse auf molekularer und morphologischer Ebene vornehmlich aus Tier- und Zellstudien. So wurde anhand von Rattenexperimenten gezeigt, dass der Nachwuchs von Müttern, die während der Schwangerschaft eine DHA-Mangeldiät erhielten, eine geringere Konzentration des nervalen Wachstumsfaktors, BDNF (Brain derived nerve growth factor), sowie eine reduzierte Aktivität der BDNF-Signaltransduktionswege vorweisen [19]. Nervale Wachstumsfaktoren wie BDNF fördern synaptische Plastizität durch die Aktivierung von Signaltransduktionswegen, durch Hochregulierung der Transkription von Neurotransmittern [20], durch die Aktivierung von postsynaptischen Rezeptoren [21] und durch die Erhöhung der Dendritenverzweigungen [22]. Synaptische Plastizität wird als Mechanismus der Langzeitpotenzierung von synaptischer Signalübertragung angesehen und somit als Mechanismus, dem Lern- und Gedächtnisleistung unterliegen [23]. Eine weitere wichtige molekularbiologische Funktion von DHA resultiert aus dem Einbau in die Phospholipide der neuronalen Zellmembranen. Der Einbau von DHA begünstigt den Elektronentransport über die Membran von Neuronen und damit die neuronale Signalübertragung [24]. DHA wird vor allem in Phosphatidylethanolamin

(PE) und Phosphatidylserin (PS) eingebaut und konkurriert mit den Omega-6-Fettsäuren um die Integration in die Zellmembran [25]. Ist durch eine Mutation die DHA-abhängige Phosphatidylserin-Synthese gestört, so ist die Konzentration des PS im Hippocampus signifikant geringer und die neuronale Apoptoserate erhöht [26]. Nicht nur über die Synthese von PS, sondern auch über seine anti-inflammatorische Funktion durch die Hochregulierung von Neuroprotectin wirkt DHA der neuronalen Apoptose entgegen [27]. Apoptose tritt in neuronalem Gewebe während der fötalen Entwicklung meist infolge von Hypoxie oder Hyperoxie durch Beatmung auf. Nach induzierter Hypoxie bzw. Hyperoxie zeigten Ratten von Müttern, die während der Schwangerschaft mit einer DHA-reichen Diät gefüttert wurden, eine geringere Apoptose in neuronalem Gewebe sowie eine geringere Rate an oxidativem Stress [28, 29].

Neuere Erkenntnisse lassen vermuten, dass DHA die Reifung von neuronalem Gewebe positiv beeinflusst. Während der embryonalen Entwicklung fördert eine DHA-reiche Diät die Zunahme der Neuritenlänge und -verzweigung [30], sowie der Neuronen im Hippocampus [31] und proangiogener Faktoren im Gehirn [32]. Demgegenüber geht ein Omega-3-Mangel mit einer reduzierten kortikalen Dicke sowie einer verspäteten Zellmigration [33] und Neurogenese [16] einher.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass es einige Hinweise darauf gibt, dass eine erhöhte DHA-Aufnahme der Mutter während der Schwangerschaft die Reifung und die Vitalität des neuronalen Gewebes beeinflusst. Auf morphologischer Ebene verstärkt DHA während der sensiblen Phase der Entwicklung Neurogenese, Angiogenese, Zellmigration und Dendritenwachstum. Auf funktioneller Ebene geht eine erhöhte Bereitstellung von DHA mit der Hochregulierung von Neurotransmittern, postsynaptischen Rezeptoren und des Elektronenfluss über die neuronale Membran einher. Doch wie lassen sich diese Ergebnisse auf die klinische Forschung übertragen?

1.2 DHA-Funktion in der kindlichen Gehirnentwicklung- klinische Studien

Bisher näherte man sich klinisch der Frage, wie sich mütterliches DHA auf das Gehirn des sich entwickelnden Fötus auswirkt, vornehmlich über doppel-blinde, randomisierte, Placebo kontrollierte Studien. Es existieren zehn Studien von 2003 bis 2017, in denen Schwangere rekrutiert und in zwei Gruppen randomisiert wurden [34-45]. Eine Gruppe erhielt während der

Schwangerschaft eine Omega-3-Fettsäure Supplementation, während die andere Gruppe ein Placebo einnahm. Frühestens im 9. Lebensmonat [42] und spätestens im 7. Lebensjahr [44] wurde anhand von kognitiven Testungen die neuronale Entwicklung des Kindes gemessen. Fast die Hälfte der Studien fand keine Assoziation zwischen mütterlicher DHA-Supplementierung und der Gedächtnisleistung, dem Problemlöseverhalten, der sprachliche, sozialen und motorischen Entwicklung des Kindes [35, 36, 41, 43]. Die andere Hälfte der Studien fand positive Korrelationen mit der Gedächtnisleistung, Aufmerksamkeit, dem Problemlöseverhalten und der motorischen Entwicklung [38-40, 42, 45]. Zwei Studien fanden eine negative Assoziation zwischen der DHA-Supplementierung und dem Verhalten, der Gedächtnisleistung und Aufmerksamkeit des Kindes [34, 39]. Zusätzlich wurde in sechs der zehn Studien der Einfluss von mütterlichen DHA-Plasma-Konzentrationen während der Schwangerschaft auf die kognitive Leistungsfähigkeit des Kindes analysiert [36, 38-41, 43, 44]. In 83% der Studien korrelieren DHA-Plasmakonzentrationen der Mütter positiv mit der Gedächtnisleistung und motorischen Entwicklung des Kindes [36, 38, 40, 41, 43]. Eine Studie fand eine negative Assoziation zwischen mütterlichen DHA-Plasmakonzentrationen und der Aufmerksamkeit des Kindes [39]. Die negative Korrelation wird als Zufall interpretiert, da sie bisher so von der Gesamtstudienlage nicht bestätigt werden konnte. Diese Ergebnisse unterstreichen die Tatsache, dass das mütterliche Omega-3-Fettsäure-Angebot nicht nur durch die Supplementierung sondern auch durch viele weitere Faktoren beeinflusst wird, wie zum Beispiel die Resorption, Verstoffwechslung, Bioverfügbarkeit und individuelle Ernährungsgewohnheiten, deren Ausmaß annähernd durch eine DHA-Plasmakonzentrationsbestimmung bestimmt werden können. Erhöhte mütterliche DHA-Plasmakonzentrationen scheinen einen stärkeren Effekt auf die kindliche Gehirnentwicklung zu haben als die DHA-Supplementierung an sich. Die klinische Studie von Mulder et al. bestimmte das Risiko, dass Kindern von Müttern, die in der Schwangerschaft das Placebo erhielten, nicht zu den 25% der Kinder mit der besten Gehirnentwicklung gehörten [46, 47]. In der Tat schafften es diese Kinder im Alter von 14 und 18 Monaten in Sprachverständnis- und Sprachproduktionstests nicht unter die besten 25%. Mulder et al. schlussfolgern, dass eine niedrige DHA-Aufnahme durch die Mutter ein Risiko darstellt, dass das Kind eine schlechtere kognitive Leistung zeigt. Im Follow-up der Studie schnitten die Kinder aus der Placebo-Gruppe mit 5-6 Jahren nicht schlechter ab als die Kinder aus der DHA-Gruppe [47]. Eine weitere Studie untersuchte den mütterlichen Fischkonsum während der Schwangerschaft auf

das neurokognitive Outcome des Kindes ohne jegliche Intervention [48]. Diese Studie zeigt, dass 4-jährige Kinder, deren Mütter in der Schwangerschaft mehr als 2-3 mal Fisch pro Woche gegessen hatten, signifikant höhere Scores in kognitiven Testungen und der motorischen Entwicklung erlangten. Zusammenfassend liefern die klinischen, interventionellen Studien folgende Erkenntnisse: Die Wahrscheinlichkeit einer positiven DHA Effektes steigt, je höher die DHA-Plasmakonzentration ist und je früher die Kinder kognitiv getestet wurden. Die Korrelation ist positiv, wenn die Mütter mindestens 800 mg DHA/Tag einnahmen und die Kinder vor dem 4. Geburtstag getestet wurden.

1.3 DHA- Stoffwechsel und Transport in der Schwangerschaft

Eine weitere Quelle der fötalen DHA-Versorgung, unabhängig von der direkten mütterlichen DHA-Aufnahme, sind die Fettreserven, die die Mutter bis zur 30. Schwangerschaftswoche bildet. Im Laufe der Schwangerschaft werden diese Fettreserven zu Gunsten der Versorgung des Fötus mobilisiert. DHA zirkuliert im mütterlichen Blut vor allem in Form von nicht veresterten Fettsäuren (Non-esterified Fatty acids: NEFAS), die aus dem Triacylglycerol der Fettdepots gewonnen werden, als Cholesterolester (CE), als Lipoprotein und an eine Phosphatgruppe verestert als Phospholipid Lysophosphatidylcholin (LPC). Es konnte gezeigt werden, dass die mütterliche LC PUFA-Konzentrationen im Blut besonders während der ersten beiden Schwangerschaftstrimester abnehmen, was auf eine Mobilisierung der Fettreserven und deren Aufnahme durch das Kind schließen lässt [49]. DHA findet sich im fötalen Plasma vor allem als NEFA (2,8%) und an Phospholipide (6,6%) gebunden, siehe Abbildung 2. Der NEFA Transport über die Plazenta geschieht über Diffusion. Die fötale Fettsäureaufnahme erfolgt aber vornehmlich durch veresterte Fettsäuren (LPCs) über Transportproteine (FABP) und eine erhöhte plazentare Phospholipase Aktivität [50-52]. Zudem ist die Plazenta fähig, bestimmte Fettsäuren, vor allem DHA, zu selektieren und die mütterliche Fettsäure Mobilisation zu initiieren, indem sie das Protein PDL (placenta derived leptin) ausschüttet. Im kindlichen Fettgewebe findet demnach eine selektive Akkumulation von DHA statt, die zu einer erhöhten Omega-3-Konzentration im kindlichen Fettgewebe führt. Dieser als „Biomagnifikation“ bezeichnete Prozess führt dazu, dass Fötale Fettgewebe 1,6% DHA verglichen mit 0,1% in mütterlichem Fettgewebe enthält [53]. Das gespeicherte DHA des Kindes wird weitestgehend in den ersten zwei Lebensmonaten verstoffwechselt, vor

alles, wenn das Kind postnatal eine DHA-Mangeldiät erfährt. Das Gehirn nimmt die Fettsäuren aus dem Blutplasma durch einfache Diffusion über die Blut-Hirn-Schranke auf [54]. Im menschlichen Gehirn findet die Hauptakkumulation von DHA im letzten Schwangerschaftstrimester statt, zum gleichen Zeitpunkt wie auch die verstärkte Neurogenese. Es konnte gezeigt werden, dass ein Omega-3-Mangel den DHA-Gehalt im Gehirn um 90% senken kann [55] und dass DHA-Supplementierung in der Schwangerschaft in einer dosisabhängigen Weise den DHA-Gehalt im mütterlichen Plasma und im fötalen Gehirngewebe vergrößern kann [9, 56].

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass DHA in hohen Konzentrationen im Hirngewebe vorhanden ist und eine DHA-Mangelernährung zu einer verminderten DHA-Konzentration im Hirngewebe führt. Der Fötus ist fast vollständig von der DHA-Versorgung durch die Mutter abhängig. Die Versorgung erfolgt über Selektionsmechanismen der Plazenta und führt zu einem verstärkten Speichern von DHA im fötalen Fettgewebe und Plasma. Erkenntnisse aus der tierexperimentellen und Zellforschung schreiben DHA eine wichtige Funktion in der neuronalen Reifung, dem Gehirnvolumen sowie in der Ausbildung von synaptischer Plastizität zu. Der Fokus klinischer Studien lag bisher auf der Erforschung des Einflusses mütterlicher DHA-Supplementierung während der Schwangerschaft auf die kognitive Leistungsfähigkeit des Kindes in verschiedenen Lebensphasen. Die Ergebnisse sind heterogen mit 8 von 10 klinischen Studien, die einen positiven Effekt von DHA nachweisen und 3 Studien, die keinen oder einen negativen Effekt nachweisen konnten. Positive Effekte zeigten sich bei Kindern im Alter von 9 Monaten bis 4 Jahren und vor allem in folgenden Bereichen der kindlichen Entwicklung: Gedächtnis, Aufmerksamkeit, Problemlöseverhalten, Sprache und Motorik. Je früher die Kinder getestet wurden, desto höher die Wahrscheinlichkeit, einen positiven Effekt von DHA und kognitiver Leistung aufzudecken. Die bisherige klinische Herangehensweise an die Untersuchung des DHA-Einflusses auf die kindliche Gehirnentwicklung birgt mehrere Limitationen. Die bloße Einnahme von Omega-3-Präparaten durch die Mutter lässt keine Aussage darüber zu, wie hoch die Konzentration an DHA ist, die im Gehirngewebe des Kindes verstoffwechselt werden kann. Denn die von dem Kind verwertbare Omega-3-Konzentration ist abhängig von folgenden Faktoren: der mütterlichen Resorption des Omega-3-Präparats im Darm, der mütterlichen und fötalen Konversionsrate von ALA zu DHA, der Auflösung mütterlicher Fettreserven, der

Transportmechanismen von Fettsäuren über die Plazenta und die fötale Blut-Hirnschranke und der Verstoffwechslung der Fettsäure durch die mütterliche sowie die fötale Leber.

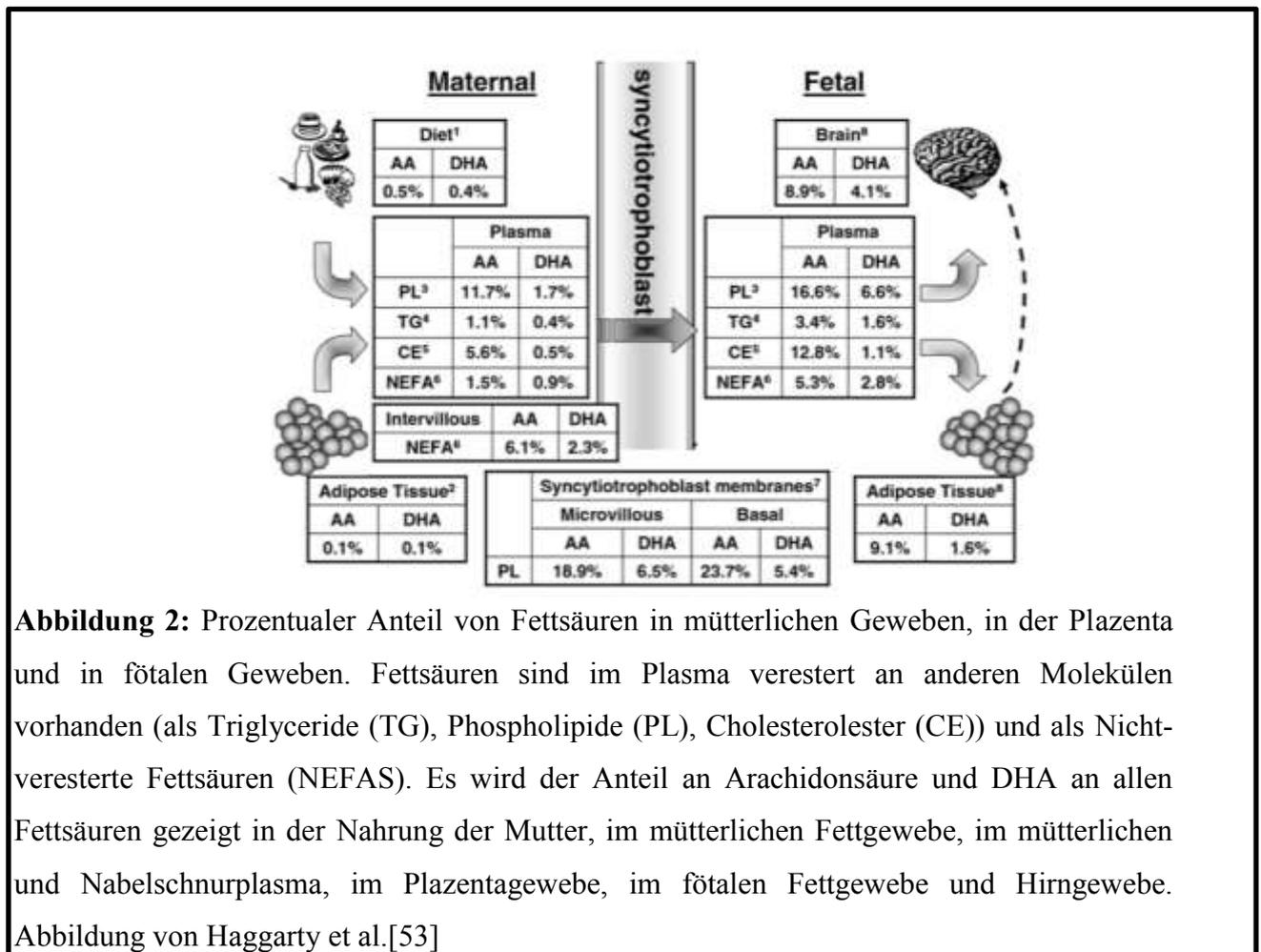


Abbildung 2: Prozentualer Anteil von Fettsäuren in mütterlichen Geweben, in der Plazenta und in fötalen Geweben. Fettsäuren sind im Plasma verestert an anderen Molekülen vorhanden (als Triglyceride (TG), Phospholipide (PL), Cholesterolester (CE)) und als Nicht-veresterte Fettsäuren (NEFAS). Es wird der Anteil an Arachidonsäure und DHA an allen Fettsäuren gezeigt in der Nahrung der Mutter, im mütterlichen Fettgewebe, im mütterlichen und Nabelschnurplasma, im Plazentagewebe, im fötalen Fettgewebe und Hirngewebe. Abbildung von Haggarty et al.[53]

Viele Forschungsfelder der fötalen Programmierung erforschten geschlechtsspezifische Unterschiede in der Reaktion des Fötus auf seine Umwelt. Diese Unterschiede wurden im Rahmen der Forschung um den Einfluss von Omega-3-Fettsäuren und der Gehirnentwicklung des Kindes unserer Kenntnis nach bisher nicht ausreichend ausgewertet. Auch die klinische Messbarkeit der kindlichen Gehirnentwicklung stellt eine Herausforderung dar, die einheitlicher, normierter Tests bedarf. Um einen Zusammenhang mit der Omega-3-Versorgung während der embryonalen Entwicklung herzustellen, muss zudem eine solche Testung so früh wie möglich nach der Geburt erfolgen. Denn je später eine solche Testung durchgeführt wird, desto stärker ist der Einfluss weiterer, externer Variablen auf die

Gehirnentwicklung. Dazu zählen beispielsweise die postnatale Ernährung des Kindes und die kognitive Förderung nach der Geburt.

Tierexperimente näherten sich dieser Problematik, indem sie neben kognitiven Leistungen der Tiere auch morphologische Einflüsse der mütterlichen Omega-3-Versorgung auf das kindliche Gehirn untersuchten. An diesen Punkten knüpft diese Arbeit an und hat zum Ziel, die Grundlagenforschung und klinischen Erkenntnisse zu verbinden und zu erweitern.

Die Herausforderung dieser Arbeit besteht darin, die mütterliche DHA-Versorgung zu objektivieren. Dies ist möglich, indem man die DHA-Konzentrationen, in Form von NEFA- und LPC-DHA, im Plasma der Mutter während der Schwangerschaft bestimmt. Die im Plasma der Mütter gemessenen DHA-Konzentrationen repräsentieren die DHA-

Konzentrationen, die sowohl durch Supplementierung, durch die Einnahme von Nahrungsmitteln, durch die darauffolgende Darmresorption und Konversion, als auch durch die Mobilisation der Fettreserven entstehen. Auch berücksichtigten nur wenige klinische

DHA-Studien mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede in der fötalen Gehirnentwicklung. Ziel dieser Arbeit ist es, eine präzisere Aussage über die für den Fötus verfügbaren DHA-Konzentrationen und eventuelle geschlechtsspezifische Effekte zu machen.

Es konnte gezeigt werden, dass Gehirnstrukturen, insbesondere in der vulnerablen Zeit der fötalen Entwicklung, durch intrauterine Einflüsse wie Infektion [57], mütterliche Unterernährung [58], Alkohol [59] und Stress [60] verändert werden. Viele komplexe, psychiatrische Erkrankungen sind durch veränderte Gehirnmorphologie charakterisiert [61].

Allein Tierexperimente erforschten bisher den Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf die Morphologie des Gehirns während seiner Entwicklung. Sie zeigten unter anderem, dass in Abhängigkeit der mütterlichen Omega-3-Einnahme, das fötale Gehirn eine erhöhte Neurogenese [16], ein erhöhtes Volumen der grauen Substanz [33] und des Hippocampus [31] aufwies.

Der Hippocampus ist einer der meist untersuchten und zitierten Gehirnstrukturen in der Wissenschaft. Seine Rolle in kognitiven Funktionen, wie der Gedächtniskonsolidierung [62] und in Erkrankungen, wie zum Beispiel Alzheimer [63], ist ausführlich erforscht worden. Im Forschungsfeld der fötalen Programmierung gilt insbesondere dem Hippocampus große Aufmerksamkeit, da er sich zu einer frühen embryonalen Phase entwickelt [64] und seine morphologische Veränderung mit einer Reihe von psychiatrischen Erkrankungen assoziiert ist [61]. Es konnte gezeigt werden, dass die

DHA-Einnahme mit dem Volumen der grauen Substanz und mit der kognitiven Leistungsfähigkeit im Alter korreliert [65].

Bildmorphologische Studien am Menschen, die die Gehirnentwicklung während der uterinen Phase in Abhängigkeit von DHA untersuchen, wurden bisher nicht unternommen. Diese Studie setzt sich als Ziel, durch MRT-Aufnahmen des kindlichen Gehirns, Volumina der grauen Substanz und des Hippocampus zu ermitteln und in Beziehung zur mütterlichen DHA-Plasmakonzentrationen zu setzen. Weiteres Ziel der Arbeit ist es, eine von äußerlichen Faktoren möglichst unabhängige Aussage über den Einfluss mütterlicher Omega-3-Fettsäurekonzentrationen auf die Gehirnentwicklung des Kindes zu tätigen. Dies soll die frühe, das heißt bis zu wenige Wochen nach der Geburt, Durchführung des MRT-Scans bei dem Neugeborenen gewährleisten.

Zusammenfassend lautet die Arbeitshypothese dieser Arbeit wie folgt: Die mütterlichen DHA-Plasmakonzentration während der Schwangerschaft korrelieren mit dem Gehirnvolumen der grauen Substanz und des Hippocampus des Kindes bei der Geburt.

2. Material und Methodik

2.1 Ein- und Ausschlusskriterien der Studienpopulation

Die Studie wurde an der „University of California Irvine (UCI)“ in den USA durchgeführt und schließt N=63 schwangere Frauen ein, die am Universitätskrankenhaus oder an angebundenen Kliniken behandelt wurden. Die Studie ist Teil des „Development Health and Disease Research Program“ und erforscht den Einfluss von biologischen und psychologischen Prozessen während der Schwangerschaft mit Einfluss auf die Gesundheit von Neugeborenen, Kleinkindern und Kindern. Frauen mit einer unkomplizierten Einlingsschwangerschaft wurden im ersten, spätestens im frühen zweiten, Trimester rekrutiert. Ausschlusskriterien der Mütter waren Risikoschwangerschaften mit bestehender Infektion, Hypertension, vaginaler Blutung, Oligohydramnion, Plazentaablösung, schweren Vorerkrankungen, Erkrankungen, die mit neuroendokriner oder Immundysfunktion einhergehen, Diabetes Mellitus (Typ I, Typ II und Gestationsdiabetes), sowie Nikotin- und Drogenabusus. Die Studie wurde vom „Institutional Review Board“ der UCI genehmigt und Einverständniserklärungen der Mütter wurden eingeholt. Die schwangeren Frauen erhielten

im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen Blutabnahmen, anhand derer die Plasma-Fettsäure-Werte bestimmt wurden. Nach der Geburt hat ein Teil der Frauen postnatale Visiten mit den Neugeborenen wahrgenommen. Diese Studie schließt alle Kinder ein, deren Mütter sich im Rahmen der postnatalen Visiten mit einem MRT-Scan bei ihrem Neugeborenen einverstanden erklärten und die keine chromosomalen Fehlbildungen, neurologische Ausfälle, Frühgeburt (vor der 34. Schwangerschaftswoche) aufwiesen oder schwere perinatale Komplikationen erlitten.

2.2 Ermittlung der Kovariaten und soziodemographischer Faktoren der Studienpopulation

Der BMI der Mutter vor der Schwangerschaft, das Gestationsalter bei der Geburt und das Geschlecht des Kindes wurden den medizinischen Akten entnommen. Das Gestationsalter wurde vor der 16. Schwangerschaftswoche durch Gynäkologen anhand eines Algorithmus⁴ bestehend aus der fötalen Biometrie im Ultraschall und dem ersten Tag der letzten Regelblutung bestimmt [66]. Die soziodemographischen Informationen (Bildungsstand, familiäres Einkommen, mütterliches Alter, mütterliche Ethnizität) wurden anhand eines Fragebogens ermittelt. Das Geschlecht des Kindes und das Alter des Kindes bei dem MRT Scan wurden postnatal dokumentiert.

Diese Studie verfolgt eine prospektive Herangehensweise. Mütterliche DHA-Konzentrationen wurden zu drei Zeitpunkten in jedem Schwangerschaftstrimester bestimmt und in Beziehung zu dem kindlichen Gehirnvolumen gesetzt, das mittels MRT postnatal akquiriert wurde.

2.3 Analyse der Fettsäure-Konzentrationen im mütterlichen Plasma

Die Schwangeren wurden im ersten bzw. frühen zweiten Trimester rekrutiert und zu drei pränatalen Untersuchungen (T1, T2, T3) in jedem Schwangerschaftstrimester eingeladen. Die venöse Blutentnahme eines Standard EDTA Röhrchens von 10 ml erfolgte jeweils stets morgens an nüchternen Patientinnen. Das Blut wurde für 15 min zentrifugiert. 0,5 ml des separierten Plasmas wurden transferiert, etikettiert und bis zu den Analysen bei -80 °C im Kühlschrank gelagert.

In dieser Studie wurde DHA in Form von nicht-veresterten Fettsäuren (NEFAS) und Lysophosphaditylcholin (LPC) bestimmt. Die nicht-veresterten Fettsäuren wurden anhand

eines speziellen Massenspektrometrie-Verfahrens (Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie) analysiert. Das Verfahren wurde im Detail durch Hellmuth et al. beschrieben [67]. Zunächst wird das Plasma zentrifugiert und der Überstand in einer UPLC diphenyl Säule (Pursuit UPS Diphenyl, Varian, Darmstadt, Germany) chromatographisch mit einem HPLC System (Agilent 1200 SL Serie, Waldbronn, Germany) aufgetrennt. Das Injektionsvolumen wurde auf 10 µl mit einer Flussrate von 700 ml/min gesetzt. Das HPLC System wurde für die NEFA-Bestimmung mit einem negativen ESI Modus verbunden. Anhand dieser Methode werden die Fettsäuren nach Kettenlänge und Anzahl der Doppelbindungen getrennt, nicht nach Position der Doppelbindung. Bei der Docosahexaensäure handelt es sich um eine Fettsäure mit 22 Kohlenstoffatomen und sechs Doppelbindungen, daher die Deklaration NEFA 22:6 in den statistischen Analysen. Für die Messung der Lysophospholipide (LPC) wurde ein flow-injection Massenspektrometer (FIA-MS/MS) genutzt. Nach der Zentrifugation wurde der Überstand mit 700 µl Methanol gemischt und dem Massenspektrometer (QTRAP4000, Sciex, Darmstadt, Germany) zugeführt. Auch dieses Massenspektrometer war mit einem ESI im negativen und positiven Modus und einem LC System (Agilent, Waldbronn, Germany) verbunden. Die MS/MS Analyse lief im MRM (Multiple Reaction Monitoring) Modus. Durch diese Methode ist jedoch keine genaue Ermittlung der Position von Kohlenstoffdoppelbindungen möglich. Es wird lediglich die Anzahl der Doppelbindungen und die Länge der Kohlenstoffkette ermittelt [68].

Bei beiden Analysemethoden wurde eine Qualitätskontrolle in regelmäßigen Abständen durchgeführt. Dafür wurden sechs Plasma-Kontrollproben zwischen den einzelnen Chargen gemessen, um eine korrekte Bestimmung der Analysen zu gewährleisten. Als Kriterium der Qualität wurde eine Varianz von maximal 20% zwischen und innerhalb der einzelnen Chargen definiert.

2.4 Ermittlung der neonatalen Gehirnvolumina mittels MRT

Der MRT-Scan erfolgte bei den Neugeborenen im Mittel am 26. Lebenstag (SD +/- 12,9). Die Neugeborenen wurden nicht sediert, sondern im natürlichen Schlaf nach dem Füttern und Wickeln mit Ohrenschützern in einem Siemens 3T Scanner (TIM Trio, Siemens Medical System inc.) gescannt. Der Kopf wurde in einem Vakuumpolster fixiert. Ein Arzt oder eine

Pflegekraft waren während des gesamten Scans anwesend und überwachten Puls und Sauerstoffsättigung des Kindes mittels Pulsoxymeter. T1-gewichtete MRT-Bilder wurden anhand einer dreidimensionalen MP-Rage (Magnetization prepared rapid gradient echo) Sequenz (TR 2400 ms; TE 3.16 ms; TI1200 ms; Flip Angle 8°; 6:18 Minuten) und T2-gewichtete MRT-Bilder wurden anhand einer Turbospin Echosequenz gewonnen (TR 3200ms; TE1 13 ms; TE2 135 ms; Flip Angle 180°; 4:18 Minuten). Die Raumauflösung lag für die T1-Wichtung bei 1x1x1 mm Voxel und für die T2-Wichtung bei 1x1x1 mm Voxel mit einer 0,5 mm Lücke zwischen den Schichtaufnahmen.

Die komplette MRT-Sequenz war bei N= 63 Kindern, bei denen ebenfalls mütterliche DHA-Konzentrationen während der Schwangerschaft vorlagen, vorhanden und konnte in die Studie eingeschlossen werden. Die MRT-Scans wurden zunächst unabhängig einer Qualitätskontrolle durch zwei klinische Neuroradiologen unterzogen und ausgeschlossen, wenn sie zu viel Verzerrung durch Bewegung oder signifikante Fehlbildungen aufwiesen. Für diese Studie wurden die Volumina der grauen Substanz und des rechten sowie linken Hippocampus ermittelt. Es wurde eine Methode angewandt, die auf der Basis bereits existierender MRT-Atlanten und einem EM-Segmentierungsalgorithmus (expectation maximization segmentation algorithm) automatisch die Segmentierung des Gehirns des Neugeborenen in verschiedene Areale vollzieht [69-71]. Als Vergleichsatlas fungiert in dieser Studie der UNC neonatal multiatlas [72], der aus der manuellen Segmentierung von originalen und links-rechts gespiegelten Bildern von ausgewählten Neugeborenen-cMRT-Bildern besteht.

Zunächst wird das MRT-Bild des Kindes mit jedem MRT-Bild des Atlas koregistriert und ein Subjekt-spezifischer Atlas gebildet. Der Subjekt-spezifische Atlas entsteht aus dem Mittelwert der koregistrierten Bilder, wobei diejenigen Bilder stärker gewichtet werden, die dem Probanden Bild am nächsten kommen. Es folgt der eigentliche Segmentierungsschritt, wobei die einzelnen Hirnareale in graue Substanz (GMV=gray matter volume), weiße Substanz (WMV=white matter volume), cerebrospinale Flüssigkeit (CSF=cerebrospinal fluid) eingeteilt werden. Die Summe aus der weißen Substanz, der grauen Substanz und der cerebrospinalen Flüssigkeit bildet das intrakraniale Volumen (ICV=intracranial volume). Ein Segmentierungsbeispiel ist in Abbildung 3 zu sehen. Auch die Bestimmung der Hippocampusvolumina basiert auf der automatischen Generierung eines Subjekt-spezifischen Atlas [73]. Diese Generierung ist multi-modal, d.h. kombiniert T1- und T2-gewichtete MRT-

Bilder miteinander. Zunächst werden auch hier alle bereits manuell segmentierten Atlas-Bilder mit dem Probandenbild koregistriert. Die Koregistrierung erfolgt so, dass alle Bilder in Cluster eingeteilt werden. Jedes Cluster wird koregistriert und für jedes Cluster wird dasjenige ausgewählt, das dem Probandenbild morphologisch am ähnlichsten ist.

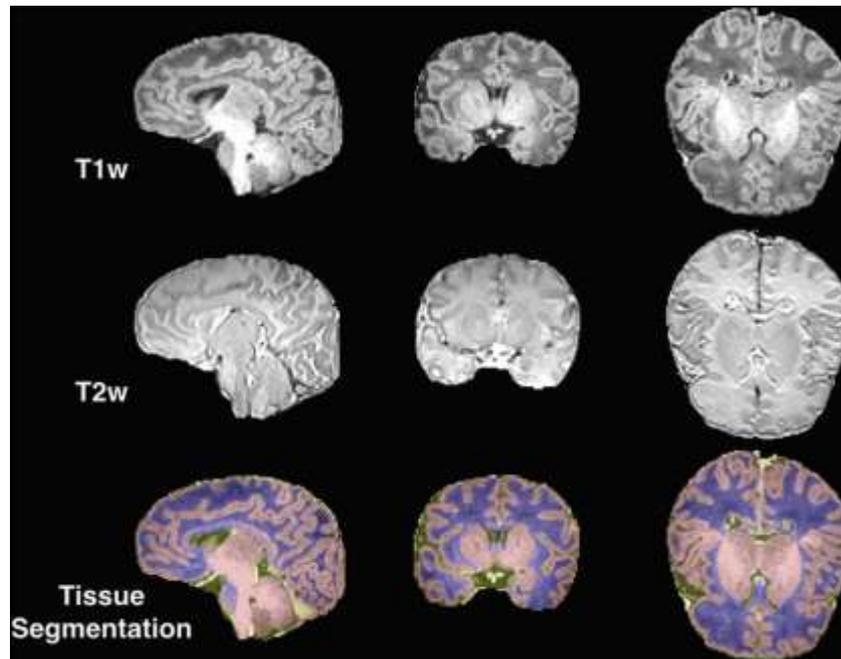


Abbildung 3: Segmentierungsbeispiel eines Neugeborenen-Gehirns. Oben: T1-gewichtete Aufnahmen, Mitte: T2-gewichtete Aufnahmen, Unten: Segmentierung mit Unterteilung in Graue Substanz (GM, grau); weiße Substanz (WM, blau) und zerebrospinale Flüssigkeit (grün). Abbildung aus Moog et al.[70]

Zunächst erfolgt eine manuelle Korrektur, sodass die anterior-posteriore Ausrichtung entlang der hippocampalen Längsachse verläuft [74]. Die Segmentierung wird im Originalbild und im links-rechts gespiegelten Bild vollzogen und Fehler, die aufgrund der Asymmetrie entstehen, gemittelt [75]. Der Hippocampus wird in ein rechtes (RHV=right hippocampal volume) und linkes Hippocampus-Volumen (LHV=left hippocampal volume) eingeteilt.

Die Stabilität und Qualität der Scan-Auswertung in der automatisierten Prozedur wurde in einer separaten Stichprobe untersucht, wobei Koeffizienten mit einer Varianz von <0,4% als stabil gelten. Die Reliabilität der manuellen Korrektur wurde anhand einer Studie getestet.

Dafür wurden fünf Datensätze verdreifacht und randomisiert, sodass insgesamt 15 Datensätze

generiert wurden. Die 15 Datensätze wurden dann einer automatischen Segmentierung unterzogen und diese anschließend durch zwei Bewerter manuell korrigiert. Die Korrelationskoeffizienten zwischen den Bewertern und innerhalb eines Bewerterers waren hoch und lagen bei $r > 0,98$ [70].

2.5 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Statistische Analysen wurden anhand der IBM SPSS Software, Version 23 und 25, für Windows durchgeführt. Um die Hypothese zu testen, dass mütterliche DHA-Konzentrationen während der Schwangerschaft positiv mit der Größe des fötalen Gehirnvolumens korrelieren, wurden die Fettsäure-Konzentrationen als Prädiktoren (unabhängige Variable) und die Gehirnvolumina als Zielvariable (abhängige Variable) definiert. Hauptprädiktoren sind die Mittelwerte der Konzentrationen beider DHA-Formen (LPC und NEFA) über alle drei Schwangerschaftstrimester (T1, T2, T3). Zielvariable ist das Gesamtvolumen der Grauen Substanz (GMV), sowie das rechte und linke hippocampale Volumen (RHV, LHV) des Kindes. Es wurden für zwei Prädiktoren und je drei Zielvariablen separate Regressionsmodelle berechnet. Identische Regressionsmodelle wurden nach Geschlecht des Kindes stratifiziert und mit einem Interaktionsterm aus der Fettsäurekonzentration und dem Geschlecht des Kindes durchgeführt, um zu untersuchen, ob das Geschlecht des Kindes den Effekt von mütterlichen Fettsäurekonzentrationen auf das kindliche Gehirnvolumen moderiert (siehe Abschnitt „Geschlechts-Interaktionsterm“). Um dies zu untersuchen wurden die gleichen Regressionsmodelle mit dem Geschlechts-Interaktionsterm durchgeführt.

2.6 Kovariaten

Die Reife des Kindes ist ein Faktor, der das Gehirnvolumen beeinflusst. Sie wird mit dem Gestationsalter bei der Geburt sowie dem Alter des Kindes am Tag des MRT-Scans erfasst. Hohe Korrelationskoeffizienten ($r > 0,359$, $p = 0,000$) anhand dieser Studie bestätigen den positiven Zusammenhang zwischen Gestationsalter, kindlichem Alter am Tag des MRT-Scans und Gehirnvolumen, sodass diese Variablen als Kovariaten in die Regressionsanalysen einbezogen worden sind. Zudem wurden die Analysen jeweils für das gesamte intrakranielle

Volumen (ICV) kontrolliert, um Rückschlüsse auf einen relativen Effekt der Fettsäuren auf die Gehirnvolumina zu ermöglichen. Die Korrelationen zwischen den Gehirnvolumina und den Kovariaten (Gestationsalter bei der Geburt, Alter des Kindes am Tag des MRT-Scans und intrakraniales Volumen) sind in Tabelle 1 dargestellt.

	GMV	RHV	LHV
Gestationsalter bei der Geburt	r=0,405, p=0,000	r=0,359, p=0,000	r=0,407, p=0,000
Alter des Kindes beim MRT Scan	r=0,521, p=0,000	r=0,443, p=0,000	r=0,435, p=0,000
intrakraniales Volumen	r=0,940, p=0,000	r=0,730, p=0,000	r=0,753, p=0,000
präkonzeptioneller BMI	r=0,056, p=0,145	r=0,035, p=0,335	r=0,136, p=0,000

Tabelle 1. Korrelation zwischen den Gehirnvolumina (GMV=Gray matter volume, RHV=right hippocampal volume; LHV=left hippocampal volume) und den Kovariaten.

Aktuelle Studien zeigen, dass ein Übergewicht der Mutter vor und während der Schwangerschaft die neuronale Entwicklung des Kindes negativ beeinflusst [73, 76, 77]. So wurde anhand einer Studie gezeigt, dass eine Assoziation zwischen mütterlichem Übergewicht während der Schwangerschaft und dem Risiko einer infantilen Zerebralparese besteht [78]. Im Mausmodell zeigte der Nachwuchs von übergewichtigen Müttern eine verzögerte Migration und Reifung von neuronalen Stammzellen [79]. Die Korrelationen zwischen den kindlichen Gehirnvolumina und dem präkonzeptionellen BMI anhand der vorliegenden Studie ist für das linke hippocampale Volumen signifikant (r=0,136, p=0,000). Das Volumen der grauen Substanz bzw. des rechten Hippocampus zeigen keine signifikante Korrelation mit dem präkonzeptionellen BMI, (GMV: r=0,072, p=0,583; RHV: r=0,044, p=0,732;). Der mütterliche BMI vor der Schwangerschaft wurde als Kovariate in alle Regressionsmodelle einbezogen, um sicher zu gehen, dass er das Ergebnis nicht beeinflusst. Wird der BMI als Kovariate ausgeschlossen, ändern sich die Ergebnisse nicht signifikant. Die präsentierten Ergebnisse schließen das Gestationsalter bei der Geburt, das Alter des Kindes am Tag des MRT-Scans, den mütterlichen präkonzeptionellen BMI sowie das intrakraniale Volumen als Kontrollvariablen mit ein.

2.7 Ergänzung fehlender, mütterlicher DHA-Konzentrationen anhand multipler Imputation

Die Plasma-DHA-Konzentrationen der Schwangeren wurden in jedem Trimenon bestimmt. Jedoch waren nicht für alle Probandinnen zu allen drei Zeitpunkten Werte vorhanden. Dies liegt an dem Nichterscheinen der Probandinnen zu den jeweiligen Untersuchungen. Bei den LPC DHA- und NEFA DHA-Werten fehlten im ersten Trimenon je 5 Werte, im zweiten und dritten Trimenon jeweils ein Wert. Insgesamt ergaben sich daraus N=14 fehlende von insgesamt N=567 DHA-Konzentrationen (63 Probanden mal 9 DHA-Konzentrationen). Pro Proband und Fettsäure waren jedoch stets mindestens zwei Werte aus zwei verschiedenen Trimenen vorhanden. Fehlende Werte minimieren die Größe der Stichprobe und können somit zu fehlerhaften Schätzungen führen. Fehlende Fettsäure Werte wurden daher durch multiple Imputation ergänzt, um einen vollständigen Datensatz zu generieren und einen Mittelwert über alle Trimenen bilden zu können. Bei der Methode der multiplen Imputation wird von einer Normalverteilung aller Variablen ausgegangen. Auf Basis der bereits vorhandenen DHA-Werte, der Kontroll-, sowie der abhängigen Variablen (Gehirnvolumina) wurden mehrere Datensätze mit mehreren Schätzungen, in diesem Fall 10, generiert. Die Multiple Imputation erfolgte durch die IBM SPSS Software (Version 23 und 25). Anhand der 10 Datensätze wurden 10 separate Regressionsmodelle berechnet und diese am Ende gepoolt, d.h. die Ergebnisse anhand ihrer Standardfehler gewichtet und kombiniert. In der vorliegenden Arbeit werden nur die gepoolten, d.h. kombinierten Ergebnisse präsentiert. Jedoch ist das Verfahren, wie die gepoolten Ergebnisse aus mehreren Multiple-Imputation-Datensätzen zusammengefasst werden, nicht standardisiert. In dieser Arbeit werden die von SPSS automatisch in den gepoolten Ergebnissen generierten T-Werte erfasst. Ergänzend wurde ein Mittelwert aus den beta-Koeffizienten der 10 Multiple-Imputation-Datensätze errechnet.

2.8 Geschlechts-Moderation der Assoziation zwischen mütterlicher Fettsäure-Konzentration und kindlichem Gehirnvolumen

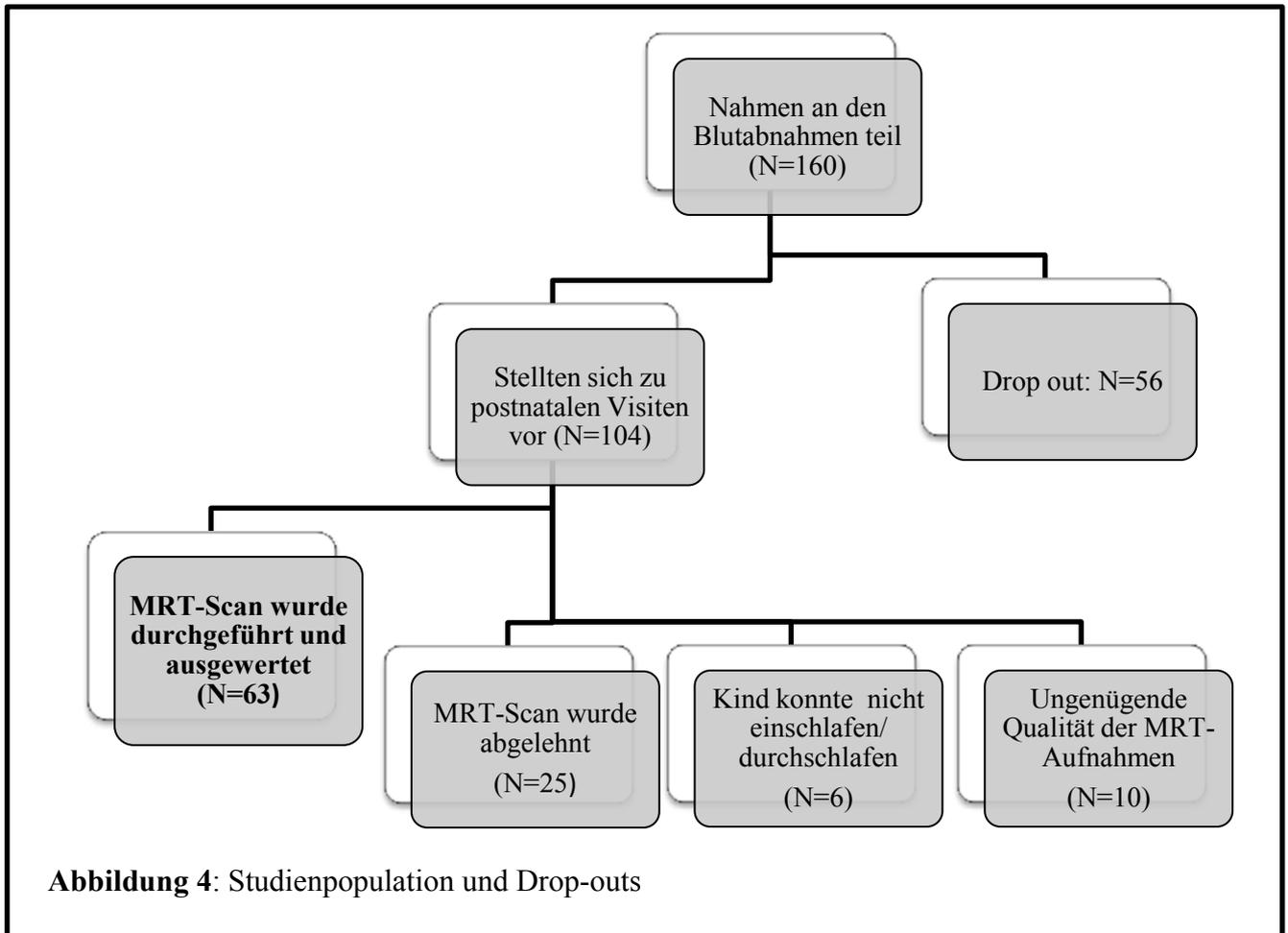
Da viele Studien zeigen, dass das Geschlecht die Effekte von pränatalen Faktoren auf die fötale Gehirnentwicklung beeinflusst [60, 80, 81], wurde durch Stratifizierung der Studienpopulation nach Geschlecht des Kindes untersucht, ob eine Assoziation zwischen der

Fettsäure-Konzentration und dem Gehirnvolumen von Mädchen bzw Jungen nachgewiesen werden kann. Zudem wurde untersucht, ob das Geschlecht des Kindes den Effekt von mütterlichen Fettsäurekonzentrationen auf das kindliche Gehirnvolumen moderiert. Zu diesem Zweck wurde ein Interaktionsterm aus der mütterlichen Plasma-DHA-Konzentration und dem Geschlecht des Kindes gebildet. In diesen Regressionsmodellen wurde das Geschlecht als binäre Variable (Mädchen=0, Jungen=1) festgelegt. Der Interaktionsterm, das Produkt aus der Fettsäurekonzentration der Mutter und Geschlecht des Kindes, ist für Mädchen 0, sodass die Interaktion in dieser Rechnung den Effekt der Fettsäure auf das Gehirnvolumen der Jungen darstellt.

3. Ergebnisse

3.1 Beschreibung der Studien-Drop-outs

Die Drop-outs der Studienpopulation sind in Abbildung 4 dargestellt. Aus der laufenden prospektiven Längsschnittstudie wurden während der Routine-Kontrolluntersuchungen bei 160 schwangeren Frauen Blutabnahmen vorgenommen und Fettsäure-Analysen durchgeführt. N= 104 dieser Frauen stellten sich mit ihren Neugeborenen zu postnatalen Visiten vor. N= 41 Mutter-Kind Paare wurden nicht in die Analysen einbezogen, da die Teilnahme an der MRT-Untersuchung abgelehnt wurde (N=25), der MRT-Scan nicht durchgeführt werden konnte, weil das Kind während der Untersuchung nicht eingeschlafen ist oder nicht durchgeschlafen hat (N=6) oder die Qualität der Aufnahmen ungenügend war (N=10). Infolgedessen existieren von N=63 Mutter-Kind-Paaren vollständige Daten, die in diese Studie eingeschlossen werden konnten.



3.2 Charakteristika der Studienpopulation

Die Mittelwerte und Standardabweichungen des Gestationsalters bei den einzelnen Untersuchungen waren bei T1= 13,1 (SD +/-1,8); T2= 20,5 (SD +/-1,4) und T3= 30,5 (SD +/- 1,4) Schwangerschaftswochen. Der durchschnittliche präkonzeptionelle BMI der Mutter lag bei 26,1 kg/m² (SD +/- 5,9). Das Kind wurde im Mittel in der 39,3.Schwangerschaftswoche (SD +/-1,4) geboren. Die 63 Mutter-Kind Paare, die in die Analysen eingegangen sind, unterscheiden sich hinsichtlich des Bildungsstands (T=-1,582, p=0,116), des mütterlichen Alters (T=-0,207, p= 0,837), der mütterlichen Ethnizität (T=0,295, p=0,768), des präkonzeptionellen BMIs (T=0,291, p=0,771) und des Gestationsalters bei der Geburt (T=- 1,187, p=0,237) nicht von den 99 Frauen, deren Daten nicht in die Analysen eingegangen sind. Auch sind in beiden Gruppen die Geschlechter der Kinder gleich repräsentiert. In beiden

Studienpopulationen finden sich mehr Jungen (MRT-Gruppe: 58,7%; Drop-out-Gruppe 47,5 %) als Mädchen (MRT-Gruppe: 41,3%; Drop-out-Gruppe: 44,4 %). Die soziodemografischen und klinischen Charakteristika der Studienpopulation sind in den Tabellen 2 und 3 dargestellt.

Charakteristika	Werte (N=63)
Alter *	27,6 +/- 5,5
Ethnizität, (%)	
Nicht-hispanisch, weiß	24 (38)
Hispanisch, weiß	19 (30)
Andere	20 (30)
BMI vor der Schwangerschaft kg/m² *	26,1 +/- 5,9
Bildungsstand, (%)	
Weniger als high school	3 (4,8)
High school	12 (19)
Unvollständiger College-Abschluss	27 (42,9)
Bachelor	15 (23,8)
Höherer Bildungsabschluss	6 (9,5)
Fam. Einkommen \$/ Jahr, (%)	
Unter 15.000	5 (7,9)
15.000- 29.999	11 (17,5)
30.000- 49.999	16 (25,4)
50.000- 100.000	22 (34,3)
Über 100.000	6 (9,5)

Tabelle 2. Soziodemographische und klinische Charakteristika der Schwangeren.

*Angaben als Mittelwert +/- Standardabweichung des Mittelwerte

Charakteristika	Werte (N=63)
Geschlecht, (%)	
Männlich	37 (58,7)
Weiblich	26 (41,3)
Gestationsalter bei der Geburt, (Wochen)*	39,3 +/-1,4

Tabelle 3. Klinische Charakteristika der Kinder.

*Angaben als Mittelwert +/- Standardabweichung des Mittelwerts

3.3 Charakteristika von Prädiktor und Outcome

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäure-Konzentrationen, der Gehirnvolumina, des Gestationsalters bei der Blutentnahme sowie des kindlichen Alters am Tag des MRT-Scans sind in den Tabellen 4 und 5 abgebildet.

Parameter	Werte (N=63)
Gestationsalter bei den Blutabnahmen, (Wochen) *	
T1	13,1+/-1,8
T2	20,5+/-1,4
T3	30,5+/-1,4
Omega-3-Fettsäurekonzentrationen, (μm)*	
NEFA 22.6 mean	1,2913 +/- 0,57737
NEFA 22.6 T1	1,4659 +/- 0,79075
NEFA 22.6 T2	1,3031 +/- 0,74236
NEFA 22.6 T3	1,3250 +/- 0,66620
LPC 22.6 mean	1,1061 +/- 0,42263
LPC 22.6 T1	1,2855 +/- 0,56620
LPC 22.6 T2	1,0928 +/- 0,44717
LPC 22.6 T3	0,9728 +/- 0,4972

Tabelle 4. Gestationsalter bei den Blutentnahmen und Omega-3-Fettsäure-Konzentrationen aus dem Blutplasma.

*Angaben als Mittelwert +/- Standardabweichung des Mittelwert

Parameter	Werte (N=63)
Alter bei dem MRT-Scan, (Tage)*	26,4+/- 12,99
Gehirnvolumina, (cm³)*	
GMV	259,82 +/- 37,26
ICV	482,43 +/- 62,50
RHV	1,95 +/- 0,015
LHV	1,16 +/- 0,014

Tabelle 5. Alter des Kindes beim MRT-Scan und Gehirnvolumina der Neugeborenen.

*Angaben als Mittelwert +/- Standardabweichung des Mittelwertes

Die NEFA 22:6-Plasmakonzentrationen und die LPC 22:6- Plasmakonzentrationen fallen signifikant im Laufe der Trimester ab ($r > 0,255$, $p < 0,028$). Die Fettsäure-Konzentrationen der einzelnen Schwangerschaftstrimester (T1, T2, T3) korrelieren signifikant miteinander ($r's > 0,527$, $p's = 0,000$), einzelne Korrelationskoeffizienten sind in Tabelle 6 aufgelistet. Durch die hohe Korrelation zwischen den Fettsäure-Konzentrationen der einzelnen Schwangerschaftstrimester, können keine Rückschlüsse auf Trimester-spezifische Effekte gezogen werden. Aus diesem Grund werden ausschließlich die Mittelwerte der Schwangerschaftstrimester in die Analysen einbezogen.

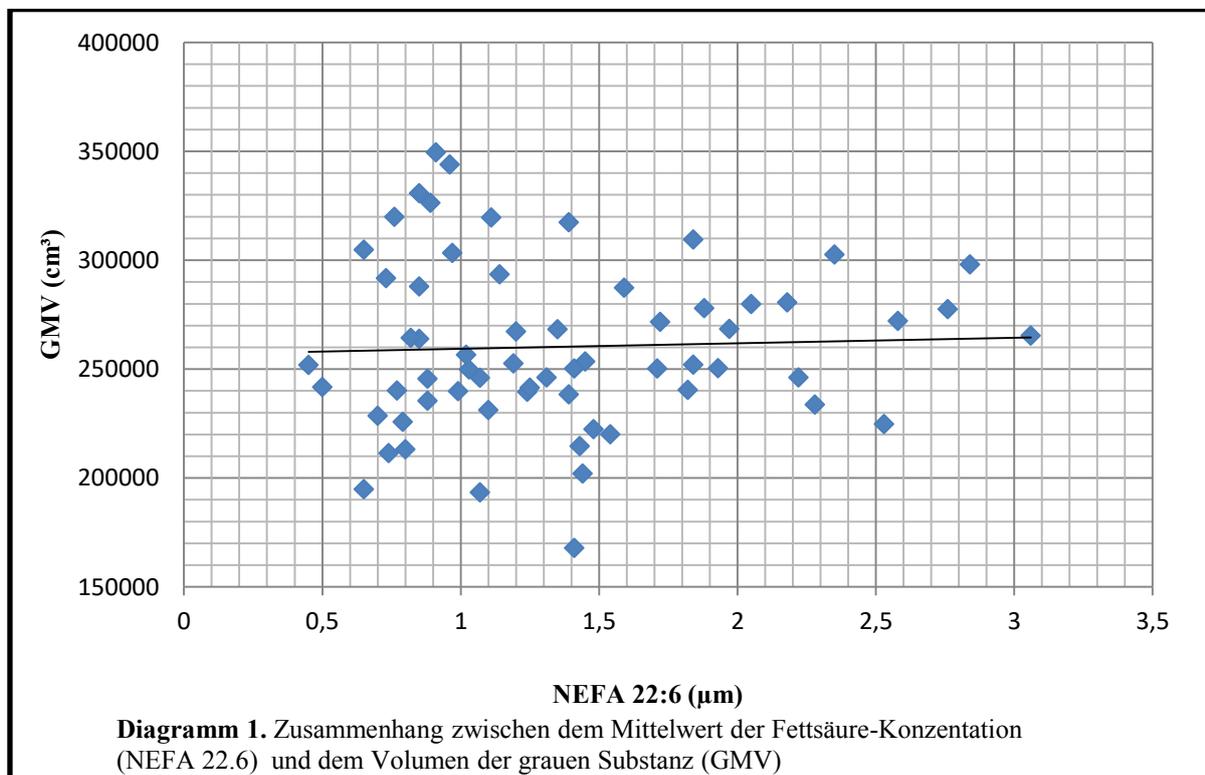
	T1 und T2	T1 und T3	T2 und T3
LPC	$r=0,771$, $p=0,000$	$r=0,527$, $p=0,000$	$r=0,674$, $p=0,000$
NEFA	$r=0,690$, $p=0,000$	$r=0,541$, $p=0,000$	$r=0,664$, $p=0,000$

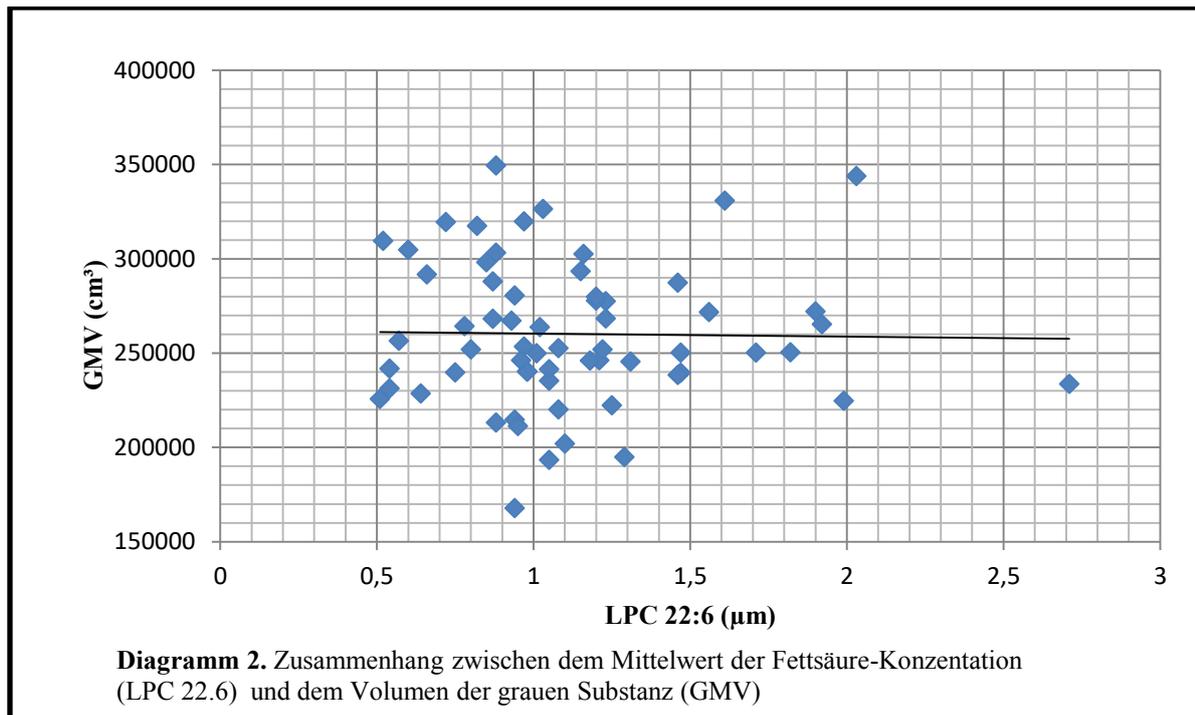
Tabelle 6. Korrelationen zwischen den einzelnen Trimestern (T1, T2, T3) der Fettsäurekonzentrationen (LPC und NEFA).

3.4 Assoziation zwischen mütterlichen DHA-Konzentrationen und dem Volumen der grauen Substanz ihres Neugeborenen

Es wurden aus der multiplen Imputation kombinierte Regressionsanalysen durchgeführt, welche für die Kovariaten Gestationsalter bei der Geburt, das Alter des Kindes am Tag des MRT-Scans und den präkonzeptionellen BMI der Mutter kontrolliert wurden. Es gab keine

Assoziation zwischen den NEFA 22:6-Konzentrationen aus den einzelnen Trimena und dem Volumen der grauen Substanz der Neugeborenen ($T=-0,406$, $\beta=-0,037$, $p=0,685$)*. Auch die Regressionsanalyse, die den Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der LPC 22:6-Konzentrationen und dem Volumen der grauen Substanz überprüft, ist nicht signifikant ($T=-0,096$, $\beta=-0,009$, $p=0,924$). Der Zusammenhang zwischen den DHA-Konzentrationen und dem Volumen der grauen Substanz ist in Form eines Streudiagramms in Diagramm 1 und Diagramm 2 dargestellt. Bezieht man das intrakraniale Volumen als Kontrollvariable in die Regressionsrechnung ein, so zeigt sich weiterhin keine Assoziation zwischen den Fettsäurekonzentrationen und dem Volumen der grauen Substanz (NEFA 22:6 $T=-0,668$, $\beta=-0,3$, $p=0,504$; LPC 22:6 $T=-0,070$, $\beta=0,004$, $p=0,945$).





3.5 Assoziation zwischen mütterlichen DHA-Konzentrationen und dem rechten und linken Hippocampus-Volumen ihres Neugeborenen

Identische Analysen wurden mit dem rechten sowie linken Hippocampus-Volumen (RHV und LHV) als Outcome durchgeführt, wobei das das intrakraniale Volumen (ICV), das Gestationsalter bei der Geburt, das Alter des Kindes beim MRT Scan und der BMI der Mutter als Kovariaten in die Modelle eingeflossen sind. Auch hier ist die Assoziation zwischen den Mittelwerten der Fettsäure-Konzentration und den Hippocampus-Volumina nicht signifikant. Dabei unterscheiden sich die Ergebnisse für das rechte hippocampale Volumen (NEFA 22:6 $T=-0,116$, $\beta=-0,009$, $p=0,908$; LPC 22:6 $T=0,354$, $\beta=0,035$, $p=0,724$) nicht von denen für das linke hippocampale Volumen (NEFA 22:6 $T=-0,609$, $\beta=-0,06$, $p=0,542$; LPC 22:6 $T=-0,443$, $\beta=-0,038$, $p=0,658$). Der Zusammenhang zwischen den DHA-Konzentrationen und dem Volumen des rechten und linken Hippocampus ist in Form eines Streudiagramms in den Diagrammen 3-6 dargestellt.

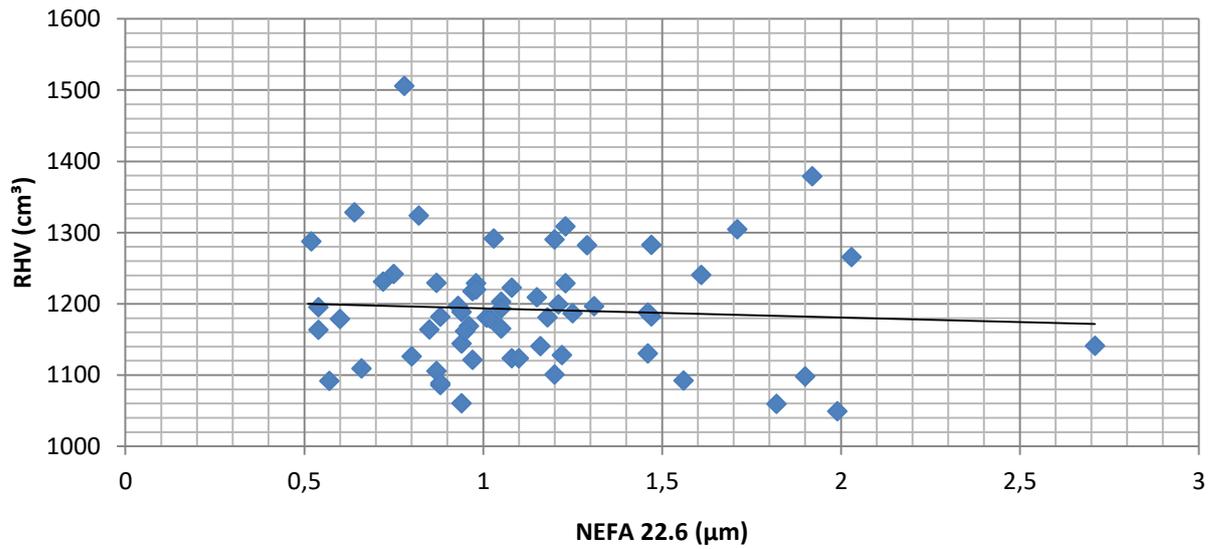


Diagramm 3. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (NEFA 22.6) und dem Volumen des rechten Hippocampus (RHV)

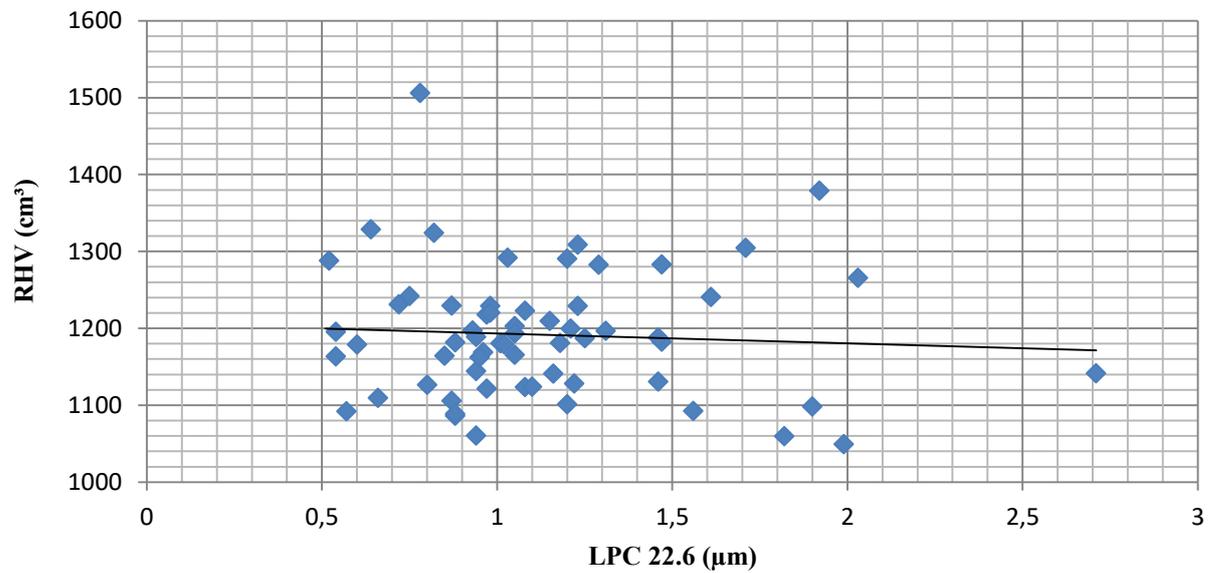


Diagramm 4. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (LPC 22.6) und dem Volumen des rechten Hippocampus (RHV)

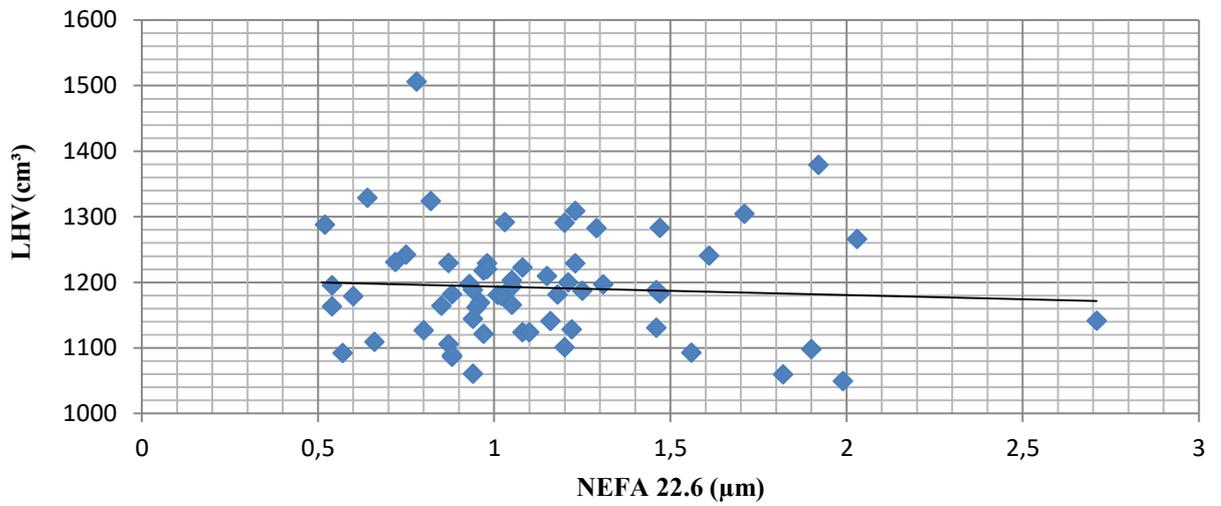


Diagramm 5. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (NEFA 22.6) und dem Volumen des linken Hippocampus (LHV)

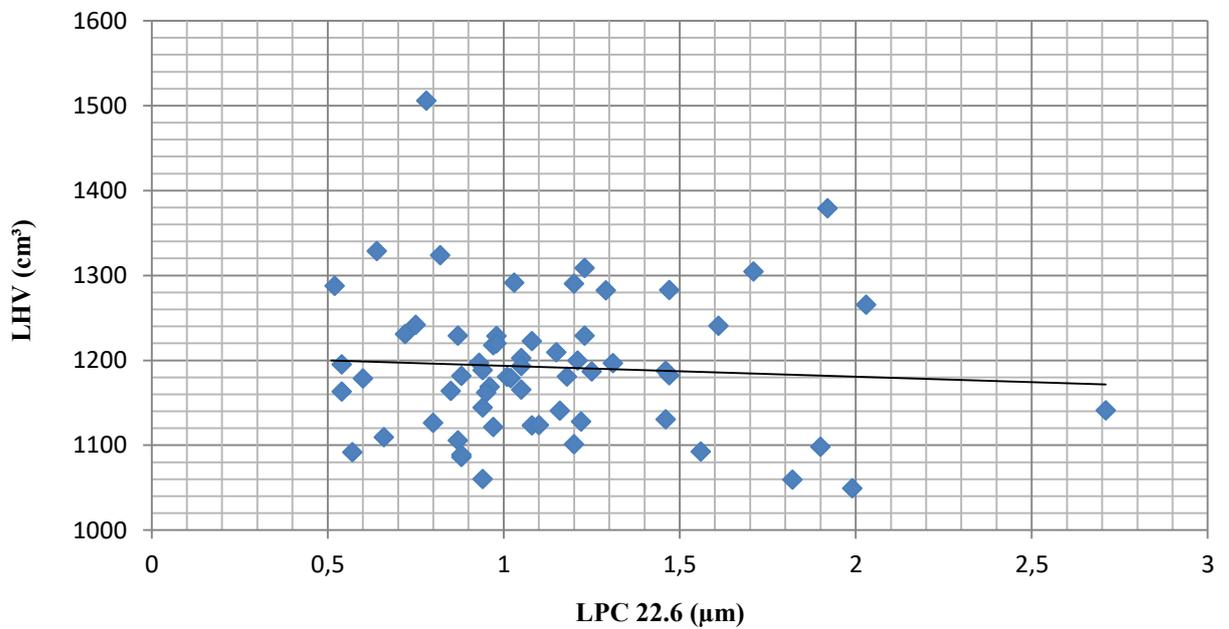


Diagramm 6. Zusammenhang zwischen dem Mittelwert der Fettsäure-Konzentration (LPC 22.6) und dem Volumen des linken Hippocampus (LHV)

3.6 Einfluss des kindlichen Geschlechts auf die Assoziation zwischen mütterlicher DHA-Konzentration und dem Gehirnvolumen ihres Neugeborenen

Stratifiziert man die Studienpopulation nach Geschlecht des Kindes, so zeigte sich in der Gruppe der Mädchen keine Assoziation zwischen den NEFA-Konzentrationen und dem Volumen der grauen Substanz (NEFA $T=-0,145$, $\beta=0,010$, $p=0,885$; LPC $T=0,163$, $\beta=0,014$, $p=0,871$), dem rechten (NEFA $T=-0,231$, $\beta=-0,039$, $p=0,817$; LPC $T=0,716$, $\beta=0,091$, $p=0,474$) sowie dem linken Hippocampusvolumen (NEFA $T=-0,145$, $\beta=-0,012$, $p=0,885$; LPC $T=0,377$, $\beta=0,043$, $p=0,706$). In der Gruppe der Jungen war die Assoziation zwischen dem Volumen der grauen Substanz und den Fettsäure-Konzentrationen negativ signifikant (NEFA $T=-2,285$, $\beta=-0,114$, $p=0,022$; LPC $T=-2,222$, $\beta=-0,113$, $p=0,026$). Nach einer Bonferroni-Korrektur für multiples Testen wird jedoch ein p-Wert von $0,05/6=0,008$ als signifikant angesehen. Die Assoziation zwischen den Fettsäure-Konzentrationen und den hippocampalen Volumina des Kindes waren in der Gruppe der Jungen nicht signifikant (RHV: NEFA $T=-1,503$, $\beta=-0,181$, $p=0,133$; LPC $T=-1,697$, $\beta=-0,232$, $p=0,090$, LHV: NEFA $T=-1,577$, $\beta=-0,209$, $p=0,155$; LPC $T=-1,902$, $\beta=-0,269$, $p=0,057$).

Die Interaktionsterme zwischen den NEFA-Konzentrationen und dem Geschlecht des Kindes zeigten keine signifikante Assoziation mit dem Volumen der grauen Substanz (NEFA 22:6 $T=1,118$, $\beta=0,336$, $p=0,264$). Auch die Interaktionsterme zwischen dem Geschlecht des Kindes und den LPC-Konzentrationen mit der grauen Substanz zeigen kein signifikantes Ergebnis (LPC 22:6 $T=1,791$, $\beta=0,620$, $p=0,073$). Wird das intrakraniale Volumen als Kontrollvariable in die Analysen einbezogen, verändern sich die Ergebnisse nicht (NEFA 22:6 $T=0,613$, $\beta=0,087$, $p=0,540$; LPC 22:6 $T=0,607$, $\beta=0,105$, $p=0,544$). So weisen diese Befunde nicht darauf hin, dass geschlechtsspezifische Assoziationen zwischen den Omega-3-Fettsäurekonzentrationen der Mutter und dem Volumen der grauen Substanz der Neugeborenen existieren.

Des Weiteren ist der Interaktionsterm aus der Fettsäure und dem Geschlecht des Kindes nicht signifikant mit dem rechten Hippocampus-Volumen assoziiert (RHV NEFA 22:6 $T=0,436$, $\beta=0,319$, $p=0,663$; LPC 22:6 $T=0,929$, $\beta=0,211$, $p=0,353$). Auch die Analysen aus dem Interaktionsterm zwischen den Fettsäure-Konzentrationen und dem Volumen des linken Hippocampus zeigen kein signifikantes Ergebnis (LHV NEFA 22:6 $T=0,149$, $\beta=0,29$, $p=0,251$; LPC 22:6 $T=1,695$, $\beta=0,552$, $p=0,090$).

Diese Studie zeigt keine Assoziation zwischen den mütterlichen Fettsäure-Konzentrationen und dem Hippocampusvolumen des Kindes.

4. Diskussion

Dies ist die erste klinische Studie, die die Assoziation zwischen mütterlichen Omega-3-Fettsäure-Konzentrationen während der Schwangerschaft und dem Gehirnvolumen des Kindes bei der Geburt untersucht. Es lagen keine signifikanten Assoziationen zwischen dem DHA-Gehalt im Plasma der Mutter während der Schwangerschaft und dem Volumen der grauen Substanz bzw. des Hippocampus des neugeborenen Kindes vor. Es konnte auch kein geschlechtsspezifischer Zusammenhang zwischen den Omega-3-Fettsäuren-Konzentrationen der Mutter während der Schwangerschaft und dem Gehirnvolumen des Kindes bei der Geburt beobachtet werden.

Das prospektive Design ist eine Stärke dieser Studie. Es zeichnet sich dadurch aus, dass schwangere Frauen im ersten Trimester rekrutiert und DHA-Plasmakonzentrationen im Schwangerschaftsverlauf bestimmt wurden. Im Anschluss an die Geburt erfolgte das cMRT des Kindes zu einem frühestmöglichen Zeitpunkt.

Die nicht signifikanten Zusammenhänge zwischen der mütterlichen DHA-Plasmakonzentration und dem Gehirnvolumen des Kindes stimmen nicht mit den meisten bisher veröffentlichten Ergebnissen aus der Grundlagenforschung überein. Studien konnten im Tiermodell zeigen, dass eine erhöhte DHA-Aufnahme während der fötalen Entwicklung mit einer verstärkten Neurogenese einhergeht. Dies zeigte sich unter anderem in der Zunahme der Neuritenlänge und -verzweigung [30], sowie in der Zunahme der Neurone im Hippocampus [31].

Die Ergebnisse aus klinischen Interventionsstudien, in denen den Frauen während der Schwangerschaft DHA in Form von Nahrungsergänzungsmitteln verabreicht wurde, sind sehr heterogen und stimmen nur zum Teil mit den Ergebnissen dieser Studie überein. Eine Reihe der Studien konnte keine [35, 36, 41, 43] oder eine negative Assoziation [34, 39] zwischen DHA und der kognitiven Leistungsfähigkeit des Kindes finden. Ein anderer Teil der Studien konnte zeigen, dass Kinder von Müttern, die während der Schwangerschaft Nahrungsergänzungsmittel mit einem hohen DHA-Gehalt einnahmen, im Alter von 9 Monaten bis 4 Jahren aufmerksamer waren und besser in der Gedächtnisleistung, im

Problemlöseverhalten sowie in motorischen Aufgaben abschnitten. Auch bezüglich des Zeitpunktes, wann die fötale Gehirnentwicklung besonders von hohen DHA-Konzentrationen profitiert, ist die Studienlage heterogen. Einerseits zeichnet sich in einem Teil der Studien die Tendenz ab, dass sich die Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln mit einem hohen DHA-Gehalt besonders zu einem frühen Zeitpunkt der Schwangerschaft positiv auf die neurokognitive Entwicklung des Kindes auswirkt [38-40, 42]. Demgegenüber scheinen aber auch die letzten Wochen der Schwangerschaft wichtig für die DHA-Versorgung und Entwicklung des Kindes zu sein, denn das DHA-Defizit, das Frühgeborene durch die verkürzte intrauterine Phase im 3. Schwangerschaftstrimester erfahren, scheint, abhängig vom Geschlecht und dem Geburtsgewicht, eine Auswirkung auf das neurologische Outcome des Kindes zu haben. Frühgeborene Kinder bzw. Kinder mit einem niedrigen Geburtsgewicht haben im 3. Trimenon weniger Fettreserven aufgebaut und profitieren in ihrer neurologischen Entwicklung von einer Omega-3-Supplementierung postnatal [82-84]. Zusammengefasst weisen diese Studien darauf hin, dass die essenziellen Fettsäuren besonders zu bestimmten Zeitpunkten in der Schwangerschaft einen Effekt auf die kindliche Gehirnentwicklung haben können. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Studie Fettsäure-Bestimmungen zu jedem Schwangerschaftstrimester durchgeführt. Die Fettsäurekonzentrationen der einzelnen Schwangerschaftstrimester korrelieren miteinander jedoch so hoch, dass über die Analysen aus dem Mittelwert der Fettsäuren hinaus keine Aussage über eine Zeitpunkt-abhängige Assoziation zwischen DHA-Konzentrationen und den Gehirnvolumina getätigt werden konnte. Der Abfall der mütterlichen Fettsäure-Konzentrationen über die drei Schwangerschaftstrimester könnte ein Hinweis darauf sein, dass zu Beginn der Schwangerschaft zu Gunsten des Fötus verstärkt Fettreserven mobilisiert und insbesondere im späteren Schwangerschaftsdrittel durch den Fötus aufgenommen werden. Obwohl bekannt ist, dass sich externe Einflüsse abhängig vom Geschlecht des Kindes auf die fötale Entwicklung auswirken [60, 80, 85], untersuchte nur eine klinische Interventionsstudie die Analysen auch im Hinblick auf einen geschlechtsspezifischen Effekt der Fettsäure. Es konnte eine negative Korrelation der maternalen Fettsäure-Konzentrationen mit der sprachlichen Entwicklung von Mädchen im Alter von 18 Monaten gefunden werden [34, 35]. Die Abhängigkeit vom Geschlecht des Kindes wurde in Form von stratifizierten Analysen und als Interaktionsterm in die vorliegenden Analysen integriert. In der Gruppe der Jungen war die Assoziation zwischen dem Volumen der grauen Substanz und den Fettsäure-

Konzentrationen negativ signifikant. Nach einer Korrektur für multiples Testen ist dies jedoch am ehesten als Zufallsbefund anzusehen. Es konnte somit keine geschlechtsspezifische Assoziation zwischen von DHA und dem Gehirnvolumen des Kindes identifiziert werden. Bisher haben fünf Studien die DHA-Konzentrationen im Blut gemessen. Sie beschränkten sich mehrheitlich auf die Bestimmung der Fettsäuren in Plasma- oder Erythrozytenphospholipiden im Nabelschnurblut direkt nach der Geburt [36, 38, 40, 43, 86], bzw. im Plasma des Kindes zum Zeitpunkt der kognitiven Testung [40, 86]. Die Mehrheit dieser Studien zeigte eine Assoziation zwischen den DHA-Konzentrationen und der Gedächtnisleistung oder motorischen Entwicklung des Kindes [36, 38, 40, 41, 43]. Eine Studie fand keine Korrelation zwischen dem Fettsäure-Gehalt des Nabelschnurblutes und der kognitiven Entwicklung des Kindes im Alter von 7 Jahren [86]. Nur eine Studie bestimmte den Fettsäuregehalt in Plasma- und Erythrozytenphospholipiden bei der Mutter im 2. und 3. Schwangerschaftstrimester [36]. Der bisherigen Kenntnis nach ist dies die erste Studie, die zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft Fettsäure-Bestimmungen vorgenommen hat. Im Vergleich zu den bisherigen klinischen Studien ist diese Studie ebenfalls die erste, die neben der an Phospholipide veresterten Form (LPC) der Fettsäuren auch die nicht-veresterte, freie Form der Fettsäuren (NEFAS) im Plasma bestimmt hat. NEFAS und LPCs repräsentieren den Hauptanteil von DHA im Blut. Ein geringerer Teil findet sich verestert an Triglyzeride, in Form von Chylomikronen oder VLDL im extrahepatischen Kreislauf. Es ist nicht auszuschließen, dass auch dieser Anteil an Fettsäuren einen Einfluss auf die fötale Gehirnentwicklung nehmen kann, zumal da auch ein plazentarer Transport der Triglyzerid-Fettsäuren nachgewiesen wurde [53] und aus dem VLDL durch die Lipoproteinlipase Triglyzeride an Endothelkapillaren freigesetzt werden können [66, 68].

Es ist zu beachten, dass die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit der Mehrheit der bisherigen klinischen Studien eingeschränkt ist, denn diese haben die DHA-Daten größtenteils über die Dokumentation der Einnahme von DHA als Nahrungsergänzungsmittel oder in Form von Ernährungsfragebögen während der Schwangerschaft erhoben. Das Ausfüllen eines solchen Ernährungsfragebogens und die regelmäßige Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln unterliegen der Compliance und der Genauigkeit der Probanden. Die von der Compliance der Probanden unabhängige Bestimmung der DHA-Konzentrationen im Blut der Mutter ist essenziell, denn sie ermöglicht es, genauere Aussagen darüber zu treffen, welche DHA-Konzentrationen dem Fötus zur Verfügung stehen. Dies hängt mit dem komplexen

Metabolismus zusammen, der der oralen Aufnahme von DHA folgt. Die reine Aufnahme von DHA über die Nahrung bzw. über Nahrungsergänzungsmittel unterliegt zunächst der Resorption im Darm. Die Aufspaltung von Fettsäuren erfolgt vor allem im Duodenum und Jejunum über die Pankreaslipase in Monoglyceride, Lysophospholipide und freie Fettsäuren [87]. Diese gelangen zu einem Teil über passive Diffusion, zu einem anderen Teil über aktiven Transport durch die Transportproteine FABP_{pm} (Fettsäure-bindendes Protein der Plasmamembran), FAT (Fettsäure-Translocase) und FATP (Fettsäure-Transportproteine) in die Enterozyten [88]. Es folgt die Resynthese von Triglyceriden und Phospholipiden und deren Einbau in Chylomikrone, die größtenteils durch die Lipoproteinlipase der Kapillar-Endothelzellen in freie Fettsäuren gespalten und zu peripheren Geweben transportiert werden. Verbliebene Chylomikron-Remnants werden in der Leber verstoffwechselt und dabei frei werdende mehrfach ungesättigte Fettsäuren in VLDL (Very low density Lipoproteins) dem extrahepatischen Kreislauf zur Verfügung gestellt [41, 87, 89, 90]. Die Resorption der mehrfach ungesättigten Fettsäuren wird durch Erkrankungen beeinflusst, die mit einer Pankreasinsuffizienz und einer verminderten Aktivität der Pankreaslipase einhergehen [91]. Zusätzlich muss berücksichtigt werden, dass auch vor der Schwangerschaft gebildete Fettdepots der Mutter mobilisiert werden, um den Fettsäure-Spiegel zu erhöhen und das Kind mit DHA zu versorgen. Laut Studienlage werden die Fettreserven und damit die höchsten Fettsäure-Konzentrationen im dritten Trimester, ab der 25. Schwangerschaftswoche, mobilisiert. Der Fötus baut selbst, besonders in diesen letzten Wochen der Schwangerschaft, anhand der mütterlichen Fettreserven eigene Reserven auf, deren Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren den der Mutter übersteigt und die weitere Versorgung des Kindes mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren postnatal sicherstellt [92]. Um auch den Einfluss der Fettdepots zu berücksichtigen, müssten klinische DHA-Studien, die auf der Dokumentation der mütterlichen Ernährung während der Schwangerschaft basieren, sogar längere Zeit vor der Befruchtung die DHA-Einnahme der Mutter dokumentieren, um nachzuvollziehen, mit welchem DHA-Gehalt die Fettreserven ausgestattet sind. Dies stellt ein nur sehr schwer umsetzbares Studiendesign dar. Es ist insgesamt wichtig zu erkennen, dass das während der Schwangerschaft oral aufgenommene DHA weder zwangsläufig dem resorbierten, noch dem im Plasma durch Fettreserven mobilisierten DHA entspricht. Aus diesen Gründen kann bisher allein die Bestimmung von DHA im Blutplasma annähernd die DHA-Konzentrationen widerspiegeln, die durch diese komplexen Stoffwechselwege entstehen.

Ein weiterer Faktor, der die DHA Konzentration beeinflusst und allein durch eine Konzentrationsbestimmung von DHA im Blut erfasst werden kann, ist die Synthese von DHA durch alpha-Linolensäure. Die Ernährung muss dabei berücksichtigt werden, denn auch die alpha-Linolensäure ist essenziell und kann nur über Öle wie Lein-, Walnuss-, Raps- und Sojaöl aufgenommen werden [90]. Zum einen unterscheidet sich die Enzymaktivität der Desaturasen bei ähnlicher Diät stark zwischen den Individuen und zum anderen wird die Konversion von ALA zu DHA durch die Aufnahme von Linolsäure (LA) vermindert, da sowohl LA als auch ALA um die Desaturasen konkurrieren. Eine erhöhte LA-Aufnahme kann zu einer Senkung der DHA-Konversion aus ALA von bis zu 40% führen [93, 94]. Es konnte gezeigt werden, dass Genpolymorphismen in FADS-Genen, die für die Desaturasen codieren, mit unterschiedlichen PUFA-Plasmakonzentrationen einhergehen und die Verfügbarkeit von DHA beeinflussen [95, 96]. Steer et al. fanden heraus, dass eine höhere FADS-Aktivität mit einer besseren neuro-kognitiven Entwicklung einhergeht [97]. Die Bestimmung von Gen-Polymorphismen im Rahmen von Nährstoff-Studien bietet den Vorteil der Unveränderlichkeit und Unabhängigkeit vom Stoffwechsel, sodass Assoziationen über ein isoliertes Zeitintervall (z.B. die Schwangerschaft) hinaus beurteilt werden können.

Die alleinige Dokumentation der Ernährungsgewohnheiten oder der DHA-Zuführung ist nicht ausreichend, um eine Aussage darüber zu treffen, wie viel DHA enzymatisch produziert wird [98]. In zukünftigen Studien gilt es, den plazentaren Transport der mehrfach ungesättigten Fettsäuren besser zu verstehen und die einzelnen Bindungsformen von DHA im Blutplasma zu bestimmen, um eine detaillierte Übersicht über alle verfügbaren DHA-Formen und deren Effekte auf die kindliche Gehirnentwicklung zu generieren.

Bisher hat, neben der vorliegenden Studie, nur eine weitere Studie das Rauchen durch die Mutter als Ausschlusskriterium aus der Studie gewertet [38]. Auch die unterschiedlichen Ausschlusskriterien schränken die Vergleichbarkeit der Studien ein. Mütterliches Rauchen beeinträchtigt nicht nur die Entwicklung des Kindes, sondern hat zudem einen negativen Effekt auf die Fähigkeit, DHA aus alpha-Linolensäure zu synthetisieren und vermindert die plazentare DHA-Aufnahme. Rauchen sollte insofern ein allgemeines Ausschlusskriterium aus den Studien sein und auch in zukünftigen MRT-Studien berücksichtigt werden [99].

Zusammenfassend kann man feststellen, dass der Stoffwechsel der Fettsäuren sehr komplex ist und man sich der Frage, wie viel DHA dem Fötus zur Verfügung steht, bisher allein durch die regelmäßige DHA-Konzentrationsbestimmung im Plasma der Mutter annähern kann.

Diese Herangehensweise erfüllt die Studie und ist damit vielen anderen klinischen Studien voraus.

Die DHA-Plasmakonzentration aus dem mütterlichen Blut repräsentiert jedoch lediglich den mütterlichen Stoffwechsel. Wie hoch die Konzentrationen sind, die über den plazentaren Transport, durch den fötalen Stoffwechsel und über die Blut-Hirn-Schranke in das fötale Hirngewebe gelangen, ist durch diese Herangehensweise nicht zu differenzieren. Es ist möglich, dass auch die plazentaren Transportproteine individuell unterschiedliche Aktivitäten aufweisen und die DHA-Konzentration im Fötus beeinflussen. Ebenso ist es möglich, dass die Konzentration durch eine individuelle Enzymaktivität der Desaturase im Fötus beeinflusst wird [8, 100]. Durch Bestimmung von DHA im Nabelschnurblut direkt nach der Geburt konnte eine positive Assoziation zwischen der Fettsäurekonzentration und der Gehirnentwicklung des Kindes gezeigt werden [43, 101]. In Zukunft könnte man im Rahmen einer MRT-Studie ergänzend die Bestimmung des Fettsäure-Gehaltes im Nabelschnurblut direkt nach der Geburt durchführen. Diese Herangehensweise liefert zwar zusätzliche Informationen zur plazentaren DHA-Konzentration, jedoch birgt auch sie mehrere Nachteile: Diese Konzentration spiegelt bei reifen Neugeborenen nur die fötale DHA-Aufnahme aus dem 3.Schwangerschaftstrimester wieder. Sie umfasst weder die ersten beiden Schwangerschaftstrimester, noch den fötalen Stoffwechsel der Fettsäure bis zum Übertritt über die Blut-Hirnschranke.

Durch das Massenspektrometrie-Verfahren, das bei der Bestimmung der Fettsäuren angewandt wurde, wird allein die Anzahl der Doppelbindungen zwischen den Kohlenstoffatomen ermittelt, nicht deren Position. Der bisherigen Kenntnis nach ist DHA jedoch die einzige mehrfach ungesättigte Fettsäure mit 6 Doppelbindungen [90]. Es ist insofern davon auszugehen, dass die bestimmten Konzentrationen bei diesem Verfahren die DHA-Plasmakonzentrationen repräsentieren.

Dem heutigen Kenntnisstand nach ist dies die erste DHA-Studie zu dem Zusammenhang von DHA-Konzentrationen während der Schwangerschaft und der fötalen Gehirnentwicklung, die das neurokognitive Outcome des Kindes nicht anhand von psychologischen Testungen untersucht, sondern durch die Anwendung bildgebender Verfahren zur Charakterisierung des Gehirns. Die Analysen erfolgten mittels MRT unmittelbar nach der Geburt und sind die ersten Ansätze, morphologische Korrelate der frühkindlichen Gehirnentwicklung im menschlichen Organismus in Abhängigkeit von Omega-3-Fettsäureressourcen zu einem so frühen Zeitpunkt

postnatal zu untersuchen. Lange galt, aufgrund ihrer Präzision, die manuelle Segmentierungsmethode von Gehirnarealen als Goldstandard in der Volumenanalyse des Gehirns. In den letzten Jahren hat die automatisierte Segmentierung in der Untersuchung von einzelnen Gehirnarealen beim Neugeborenen immer mehr an Bedeutung gewonnen. Im Gegensatz zu der sehr aufwendigen, manuellen Segmentierung durch Experten, bietet die automatisierte Methode den Vorteil, dass größere Probandenzahlen in Studien eingeschlossen werden können. Sie wurden entwickelt, um Gehirnanalysen im großen Rahmen (>50 Probanden) mit einer großen Reliabilität und Reproduzierbarkeit durchführen zu können [102]. Die Herausforderung einer automatisierten Segmentierungsmethode liegt darin, dass große interindividuelle norm- bzw krankheitsbedingte Varianten in der Gehirnmorphologie existieren und vor allem die subkortikalen Gewebe, insbesondere beim Neugeborenen, durch einen geringen Kontrast nur schwer zu differenzieren sind [73]. Diese Studie bedient sich einer automatisierten Segmentierungsmethode, die auf dem individuellen Abgleich des Probanden-MRT-Bildes mit einem Atlas aus bereits segmentierten Gehirnstrukturen und schließlich auf der Generierung eines Subjekt spezifischen Atlas basiert. Diese automatische Segmentierungsmethode liefert, gemessen an der manuellen Methode, stabile Ergebnisse [71, 73].

Diese Studie bietet eine volumetrische Bestimmung von Gehirnarealen. Sie stellt ein sehr grobes Maß der Analyse kindlicher Gehirnentwicklung dar und lässt nicht per se Rückschlüsse auf die Funktionalität des Gehirns und die kognitive Leistung des Kindes in Abhängigkeit der Fettsäurekonzentrationen zu. Jedoch unterstreichen Tiermodellstudien den Effekt von erhöhten DHA-Konzentrationen auf die Gehirnmorphologie und -funktion, insbesondere des Hippocampus. So konnten diese Studien zeigen, dass erhöhte DHA-Konzentrationen während der fötalen Entwicklung mit einem Anstieg an neuronalen Zellen und einer erhöhten synaptischen Aktivität im Hippocampus einhergehen [31, 103]. Während der fötalen Entwicklung fördert DHA, durch eine verstärkten Angio-, Neuro- und Synaptogenese über die Hochregulierung von BDNF, die synaptische Plastizität und damit den Mechanismus, dem Lern- und Gedächtnisleistung unterliegen [23]. Es gibt somit Hinweise darauf, dass DHA jenseits eines volumetrischen Effekts die Funktion des Gehirns positiv beeinflusst. Eine Möglichkeit, den Einfluss von DHA auf die Gehirnfunktion zu untersuchen und damit die Ergebnisse aus der Grundlagenforschung auf den Menschen zu übertragen, ist die Anwendung eines Funktions-MRTs (resting state functional connectivity

magnetic resonance imaging rs-fcMRI). Im Tiermodell konnte anhand des rs-fcMRTs gezeigt werden, dass Rhesus-Affen, die eine Omega-3-Mangeldiät erhielten, eine verminderte funktionelle Konnektivität im frühen Visuellen Kortex aufwiesen [104]. Eine klinische Studie konnte zeigen, dass Jungen im Alter von 8-10 Jahren mit einem hohen Fettsäuregehalt in Erythrozyten-Phospholipiden eine stärkere Konnektivität zwischen dem anterioren Gyrus cinguli und subcortikalen Regionen aufweisen [105]. Das rs-fcMRT charakterisiert Informationen über die funktionelle Architektur des Gehirns und ist sensitiv genug, individuelle Unterschiede aufzudecken. Diese Art der MRT-Untersuchung hat in der klinischen Forschung bereits in anderen Bereichen der fötalen Programmierung, wie zum Beispiel in den Untersuchungen über den Einfluss von Cortisol auf die Gehirnentwicklung, Anwendung gefunden [106-108]. Es existiert bisher keine Studie, die den Einfluss von DHA während der Schwangerschaft auf die Konnektivität zwischen Hirnarealen des Kindes untersucht. Im Hinblick auf die positiven Ergebnisse der DHA-Studien aus der klinischen und Grundlagenforschung, ist zu diesem Zeitpunkt allein durch die Volumenbestimmung des kindlichen Gehirns nicht abschließend zu klären, ob DHA einen positiven Effekt auf die fötale Gehirnentwicklung hat. Die rs-fcMRT Untersuchung könnte einen weiteren Erkenntnisgewinn im Forschungsfeld der fötalen Programmierung durch Omega-3-Fettsäuren bringen.

Als Follow-up dieser Studie, aufbauend auf den Volumenbestimmungen durch das MRT, ist es ebenfalls sinnvoll, die kognitive Leistung der Kinder in Abhängigkeit vom DHA-Gehalt der Mutter während der Schwangerschaft durch normierte neuropsychologische Testungen zu messen. Als Messungstool bietet sich beispielsweise der Bayley-Test für die Entwicklung von Säuglingen und Kleinkindern an, der ab dem 1. bis zum 42. Lebensmonat durchgeführt werden kann. Der Bayley-Test existiert in der dritten Version und umfasst Entwicklungsbereiche aus der Kognition (z.B. Gedächtnis, Problemlöseverhalten, Sprache/Kommunikation), des Verhaltens und der Motorik (z.B. Bewegungskontrolle beim Krabbeln, Rollen, Laufen, Feinmotorik) [109]. Dieser wurde bereits in mehreren klinischen DHA-Studien verwendet [34] [42] [35] und konnte Assoziationen zwischen der mütterlichen DHA-Einnahme und dem neurokognitiven Outcome des Kindes im Alter von 18 Monaten und 4 Jahren zeigen.

Neben den Stärken birgt diese Studie einige Einschränkungen. Die Probandenzahl war mit N=63 relativ klein und könnte kleine Effekte durch DHA verdecken. Signifikante Ergebnisse

werden nicht aufgedeckt, was möglicherweise auf die geringe Probandenzahl und die damit einhergehende, geringe Power zurückzuführen ist. Klinische Studien, die positive Effekte nachweisen konnten, schlossen bis zu 730 Probanden mit ein [34, 35, 44].

Anhand der vorliegenden Studie wurde eine a posteriori Analyse der Teststärke anhand der Software G*Power, Version 3.1, durchgeführt. Mit einer Effektstärke der Fettsäure von $R^2=0,001-0,02$, erzielt diese Studie eine Power von 5-12%.

Eine A priori Analyse für eine mittlere Effektgröße ergibt eine Probandenzahl von $N=83$, für eine, wie hier vorliegende, geringe Effektgröße wird zum Erreichen einer Power von 80% eine Probandenzahl von $N>500$ benötigt. Diese Studie sollte somit an einer größeren Kohorte erneut durchgeführt oder als Grundlage für eine Meta-Regression verwendet werden.

Es lag eine Normalverteilung der Studienpopulation vor, d.h. in dieser Studie sind keine Mütter mit mangelhaften DHA-Konzentrationen repräsentiert. Ursächlich ist wahrscheinlich die Tatsache, dass die meisten Schwangeren in westlichen Ländern

Nahrungsergänzungsmittel mit einem hohen DHA-Gehalt während der Schwangerschaft einnehmen. Ein negativer Effekt auf die kindliche Gehirnentwicklung durch einen DHA-Mangel kann auf diese Weise nicht aufgedeckt werden. Mulder et al. [46] teilten die Studienpopulation in Gruppen mit hohen und niedrigen DHA-Konzentrationen ein und konnten zeigen, dass Kinder von Müttern aus der Gruppe der niedrigen DHA-Konzentrationen signifikant geringere Ergebnisse in der sprachlichen Entwicklung aufwiesen. Eine Möglichkeit wäre in zukünftigen Studien anhand einer größeren Kohorte, die Gruppen nach DHA-Konzentrationen in Risikogruppen mit geringen mütterlichen DHA-Konzentrationen aufzuteilen. So könnte gezeigt werden, dass möglicherweise besonders niedrige DHA-Konzentrationen mit dem Risiko einer geringeren neurokognitiven Entwicklung einhergehen.

Es ist nicht zudem nicht auszuschließen, dass externe Faktoren die Effekte von DHA auf die fötale Gehirnentwicklung beeinflussen und mögliche positive Effekte durch Faktoren, wie zum Beispiel andere Nährstoffe oder das soziale Umfeld, abgeschwächt werden.

Beispielsweise birgt eine erhöhte DHA-Aufnahme durch Fischkonsum auch das Risiko einer Quecksilberintoxikation. Fische, die besonders alt werden, wie z.B. Thunfisch, Schwertfisch, Kabeljau, Weißfisch, Hecht oder Seehecht, weisen besonders hohe Konzentrationen an Quecksilber auf, da sie über einen längeren Zeitraum das in die Gewässer gespülte Quecksilber aufnehmen [111]. Es konnte gezeigt werden, dass Kinder, die während der

uterinen Entwicklung hohen Quecksilber-Konzentrationen durch die Mutter ausgesetzt waren, im Alter von 30 Monaten schlechter in der motorischen Entwicklung des Bayley-Tests abschnitten [112] und eine verzögerte Sprachentwicklung mit 3 Jahren aufwiesen [113]. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt aus diesem Grund, den Konsum von oben genannten Fischarten während der Schwangerschaft, der Stillzeit und bei Kindern einzuschränken [111]. Ebenso einflussreich wie Quecksilber kann die Aufnahme von Omega-6-Fettsäuren durch die Mutter sein und die positiven Effekte von DHA minimieren. Den Omega-6-Fettsäuren, aufgenommen insbesondere über Fleisch- und Milchprodukte, wird ein pro-inflammatorischer Effekt zugesagt. Insbesondere in der Gehirnentwicklung von Kindern während der uterinen Entwicklung scheinen sich hohe Konzentrationen von Omega-6-Fettsäuren negativ auf die Gehirnentwicklung auszuwirken. Es konnte eine negative Assoziation zwischen einem hohen Omega-6/Omega-3-Quotienten und der psychomotorischen Entwicklung des Kindes im Alter von 6 Monaten [114] sowie dem Auftreten von ADHS-Symptomen im Alter von 4 und 7 Jahren gezeigt werden [115]. Ergänzend zu den mütterlichen DHA-Konzentrationen sollte somit in zukünftigen Studien das Verhältnis von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren einbezogen und ausgewertet werden. Der früheste Zeitpunkt des in der vorliegenden Studie durchgeführten cMRT-Scans lag bei 5 Wochen postnatal und der späteste bei 64 Wochen postnatal. Der Untersuchungszeitpunkt lag im Durchschnitt bei 26,4 Tagen nach der Geburt. Knapp 60% der MRT-Aufnahmen entstanden nach der Neugeborenen-Periode, sprich nach eher als 28 Tagen nach der Geburt. Je später die Aufnahmen erfolgen, desto größer ist der Effekt von externen Einflüssen auf die Gehirnentwicklung des Kindes und desto schwieriger ist es, eine Aussage über den Effekt von Omega-3-Fettsäuren auf das Gehirn zu tätigen, der nicht durch externe Faktoren, wie beispielsweise die Reife des Kindes bei der Geburt, die individuelle kognitive Förderung postnatal und die postnatale Ernährung. In dieser Studie wurde der Effekt von externen Faktoren limitiert, indem die MRT-Aufnahmen so früh wie möglich nach der Geburt angefertigt und die Analysen für das Gestationsalter bei der Geburt und das Alter beim MRT-Scan kontrolliert wurden. Es wird diskutiert, dass insbesondere die Tatsache, ob das Neugeborene gestillt wird, einen Effekt auf die kognitive Entwicklung des Kindes hat [116]. Im Zusammenhang mit der Analyse von DHA-Effekten während der Schwangerschaft auf die Gehirnentwicklung des Kindes sollte jedoch nicht nur das Stillen an sich erfragt, sondern der DHA-Gehalt der Muttermilch bestimmt werden, um aussagekräftige Analysen durchführen zu

können. Erweitern könnte man diese Studie, indem man auch bei den Kindern durch Blutentnahmen die DHA-Plasmakonzentrationen im Rahmen der U-Untersuchungen 1-3 bestimmt. Alternativ könnte die Nahrungszufuhr des Kindes bei den Eltern erfragt werden. Letzteres setzt jedoch voraus, dass der DHA-Gehalt der Muttermilch bzw. der zu gefütterten Nahrung bekannt ist. Es wäre wiederum nur eine Annäherung an die kindlichen DHA Reserven. Ein Ernährungsfragebogen berücksichtigt nicht die Gegebenheiten des kindlichen Fettsäure-Stoffwechsels.

5. Zusammenfassung

Das Gehirn besteht zu einem großen Teil aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wobei der Hauptvertreter dieser Fettsäuren die essenzielle Omega-3-Fettsäure DHA ist. Sie ist ein bereits viel diskutierter Nährstoff im Forschungsfeld der fötalen Programmierung, denn es stellt sich die Frage, ob ein DHA-Mangel einen Einfluss auf die Gehirnentwicklung des Kindes hat. Ergebnisse aus bisherigen Studien sind sehr heterogen. Ein Teil konnte zeigen, dass Kinder von Müttern, die DHA während der Schwangerschaft supplementierten, besser in kognitiven Testungen abschnitten. In Tierexperimenten zeigte der Nachwuchs von Müttern, die während der Schwangerschaft eine DHA-angereicherte Diät erhielten, eine verstärkte Synapto- und Neurogenese, sowie ein erhöhtes hippocampales Volumen. Die vorliegende Studie greift diese Ergebnisse auf und untersucht den Zusammenhang zwischen mütterlichen DHA-Konzentrationen im Blutplasma während der Schwangerschaft und dem Volumen der grauen Substanz und des Hippocampus des Säuglings postnatal. Der heutigen Kenntnis nach, ist dies die erste MRT-Studie, die diesen Zusammenhang untersucht. Im Gegensatz zu den meisten bisherigen Ergebnissen, konnte in dieser Studie keine Assoziation zwischen DHA-Plasmakonzentrationen der Mutter während der Schwangerschaft und dem Gehirnvolumen des Kindes gefunden werden. Die geringe Probandenzahl (N=63) und die Komplexität des Fettsäure-Stoffwechsels schränken jedoch die Aussagekraft der Studie ein. Die von der Mutter oral aufgenommene DHA-Konzentration wird vor allem in Darm und Leber metabolisiert und über die Plazenta transportiert. Dort folgt ein weiterer Stoffwechselprozess, bevor das DHA über die Blut-Hirnschranke im Gehirngewebe aufgenommen werden kann. Diese Zwischenschritte können durch die Studie nicht abgebildet werden. Es besteht weiterhin viel Forschungsbedarf in der biochemischen Forschung, um insbesondere

plazentare Transportmechanismen besser zu verstehen und Möglichkeiten zu schaffen, die DHA-Konzentrationen zu messen, die vom fötalen Hirngewebe aufgenommen werden können.

Einige klinische Studien konnten einen positiven Effekt hoher DHA-Konzentrationen während der Schwangerschaft auf die fötale Gehirnentwicklung zeigen. Diese positiven Effekte konnten durch das vorliegende Studiendesign nicht bestätigt werden. Dies ist möglicher Weise darauf zurückzuführen, dass die Effekte von DHA auf die fötale Entwicklung subtil sind und erst ein manifester Mangel an Omega-3-Fettsäuren während der Schwangerschaft, der in der westlichen Welt durch die verbreitete Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln unwahrscheinlich ist, zu einer veränderten Gehirnentwicklung führt.

Eine Aussage über die Funktionalität des Gehirns in Abhängigkeit der DHA-Verfügbarkeit während der Gehirnentwicklung ist durch eine rein volumetrische Analyse von Gehirnregionen nicht abschließend zu tätigen. Aufbauend auf dieser Studie sollten klinische Untersuchungen folgen, die mit einer höheren Probandenzahl die Konnektivität einzelner Gehirnareale mittels rs-fcMRTs, untersucht. Außerdem kann, auf Basis einer höheren Probandenzahl, die Population in Gruppen mit hohen sowie mit niedrigen DHA-Konzentrationen eingeteilt werden und das neurokognitive Outcome der Kinder anhand der Gruppen-Zugehörigkeit mit oder ohne DHA-Mangel ermittelt werden. Zusätzlich zu der Auswertung der Bildgebung kann die Studie durch normierte, kognitive Testungen, wie z.B. dem Bayley-Test für die Entwicklung von Säuglingen und Kindern ergänzt werden. Auch sollte das Studiendesign verbessert werden, indem weitere, die kognitive Entwicklung der Kinder beeinflussende, externe Faktoren, als Kontrollvariable in die Analysen einfließen. Dazu zählen beispielsweise die Omega-6-Fettsäuren, die in hohen Konzentrationen während der Schwangerschaft durch ihre pro-inflammatorischen Eigenschaften mit einer geringeren neurokognitiven Entwicklung assoziiert sind. Es sollte sichergestellt werden, dass die neurokognitive Entwicklung der Kinder möglichst früh nach der Geburt getestet wird, um den Effekt von postnatalen Faktoren auf die Gehirnentwicklung zu minimieren. Durch das bildgebende Verfahren und die Konzentrationsbestimmung von DHA im Blut der Mutter stellt diese Studie einen neuen Schritt in der Forschung zu Omega-3-Fettsäuren in der fötalen Entwicklung dar. Sowohl die Grundlagen- als auch die klinische Forschung weist auf viele positive Effekte des DHAs auf die fötale Gehirnentwicklung hin. Die Limitationen der

vorliegenden Studie zeigen auf, dass an vielen Punkten Anknüpfungsstellen für weitere Studien existieren, um mögliche positive Effekte durch DHA zu charakterisieren.

6. Literaturverzeichnis

1. Schleussner E, *Fetale Programmierung*, Die Geburtshilfe, Springer Verlag, 2016: p. 367-378.
2. Plagemann A, *Fetale Programmierung und Funktionelle Teratologie*, Molekularmedizinische Grundlagen von fetalen und neonatalen Erkrankungen, Springer Verlag, 2005: p. S 325–344.
3. Susser E, Hoek HW, Brown A, *Neurodevelopmental disorders after prenatal famine: The story of the Dutch Famine Study*. Am J Epidemiol, 1998. **147**(3): p. 213-6.
4. Franzek EJ, Sprangers N, Janssens AC, Van Duijn CM, Van De Wetering BJ, *Prenatal exposure to the 1944-45 Dutch 'hunger winter' and addiction later in life*. Addiction, 2008. **103**(3): p. 433-8.
5. Schlotz W, Phillips DI, *Fetal origins of mental health: evidence and mechanisms*. Brain Behav Immun, 2009. **23**(7): p. 905-16.
6. Silverman BL, Rizzo TA, Cho NH, Metzger BE, *Long-term effects of the intrauterine environment. The Northwestern University Diabetes in Pregnancy Center*. Diabetes Care, 1998. **21 Suppl 2**: p. B142-9.
7. Moog NK, Entringer S, Heim C, Wadhwa PD, Kathmann N, Buss C, *Influence of maternal thyroid hormones during gestation on fetal brain development*. Neuroscience, 2017. **342**: p. 68-100.
8. Bokor S, Dumont J, Spinneker A, Gonzalez-Gross M, Nova E, Widhalm K, Moschonis G, Stehle P, Amouyel P, De Henauw S, Molnár D, Moreno LA, Meirhaeghe A, Dallongeville J, *Single nucleotide polymorphisms in the FADS gene cluster are associated with delta-5 and delta-6 desaturase activities estimated by serum fatty acid ratios*. J Lipid Res, 2010. **51**(8): p. 2325-33.
9. Arterburn LM, Hall EB, Oken H, *Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans*. Am J Clin Nutr, 2006. **83**(6 Suppl): p. 1467S-1476S.
10. Biesalski HK, *Taschenatlas der Ernährung*, Thieme Verlag, 2007.
11. Koula-Jenik H, Kraft M, Schulz RJ, *Leitfaden Ernährungsmedizin*, Elsevier Verlag, 2006.
12. Dhobale M, *Neurotrophins: Role in adverse pregnancy outcome*. Int J Dev Neurosci, 2014. **37**: p. 8-14.
13. Rombaldi Bernardi J, de Souza Escobar R, Ferreira CF, Pelufo Silveira P, *Fetal and neonatal levels of omega-3: effects on neurodevelopment, nutrition, and growth*. ScientificWorldJournal, 2012: p. 202473.
14. Dyall SC, *Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA*, Front Aging Neurosci. 2015; 7: 52. Published online 2015 Apr 21. doi: 10.3389/fnagi.2015.00052
15. Simopoulos AP, *Overview of evolutionary aspects of omega 3 fatty acids in the diet*. World Rev Nutr Diet, 1998. **83**: p. 1-11.
16. Coti Bertrand P, O'Kusky JR, Innis SM, *Maternal dietary (n-3) fatty acid deficiency alters neurogenesis in the embryonic rat brain*. J Nutr, 2006. **136**(6): p. 1570-5.
17. Simopoulos AP, *Evolutionary aspects of diet: the omega-6/omega-3 ratio and the brain*. Mol Neurobiol, 2011. **44**(2): p. 203-15.
18. (DGE), D.G.f.E. *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr*. 2019. <https://www.dge.de/wissenschaft/referenzwerte/fett/>.

19. Bhatia HS, Agrawal R, Sharma S, Huo YX, Ying Z, Gomez-Pinilla F, *Omega-3 fatty acid deficiency during brain maturation reduces neuronal and behavioral plasticity in adulthood*. PLoS One, 2011. **6**(12): p. e28451.
20. Suen PC, Wu K, Levine ES, Mount HT, Xu JL, Lin SY, Black IB, *Brain-derived neurotrophic factor rapidly enhances phosphorylation of the postsynaptic N-methyl-D-aspartate receptor subunit 1*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(15): p. 8191-5.
21. Levine ES, Dreyfuß CF., Black IB, Plummer MR, *Brain-derived neurotrophic factor rapidly enhances synaptic transmission in hippocampal neurons via postsynaptic tyrosine kinase receptors*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(17): p. 8074-7.
22. Yoshii A, Constantine-Paton M, *BDNF induces transport of PSD-95 to dendrites through PI3K-AKT signaling after NMDA receptor activation*. Nat Neurosci, 2007. **10**(6): p. 702-11.
23. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F, *Docosahexaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition*. Neuroscience, 2008. **155**(3): p. 751-9.
24. Crawford MA, Broadhurst CL, Guest M, Nagar A, Wang Y, Ghebremeskel K, Schmidt WF, *A quantum theory for the irreplaceable role of docosahexaenoic acid in neural cell signalling throughout evolution*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2013. **88**(1): p. 5-13.
25. Dyall SC, *Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA*. Front Aging Neurosci, 2015. **7**: p. 52.
26. da Costa KA, Rai KS, Craciunescu CN, Parikh K, Mehedint MG, Sanders LM, McLean-Pottinger A, Zeisel SH, *Dietary docosahexaenoic acid supplementation modulates hippocampal development in the Pemt^{-/-} mouse*. J Biol Chem, 2010. **285**(2): p. 1008-15.
27. Niemoller TD, Stark DT, Bazan NG, *Omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid is the precursor of neuroprotectin D1 in the nervous system*. World Rev Nutr Diet, 2009. **99**: p. 46-54.
28. Tuzun F, Kumral A, Ozbal S, Dilek M, Tugyan K, Duman N, Ozkan H, *Maternal prenatal omega-3 fatty acid supplementation attenuates hyperoxia-induced apoptosis in the developing rat brain*. Int J Dev Neurosci, 2012. **30**(4): p. 315-23.
29. Suganuma H, Arai Y, Kitamura Y, Hayashi M, Okumura A, Shimizu T, *Maternal docosahexaenoic acid-enriched diet prevents neonatal brain injury*. Neuropathology, 2010. **30**(6): p. 597-605.
30. Calderon F, Kim HYM, *Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons*. J Neurochem, 2004. **90**(4): p. 979-88.
31. Thomas Rajarethnem H, Megur Ramakrishna Bhat K, Jc M Kumar, Gopalkrishnan S, Mugundhu Gopalram RB, Rai KS., *Combined Supplementation of Choline and Docosahexaenoic Acid during Pregnancy Enhances Neurodevelopment of Fetal Hippocampus*. Neurol Res Int, 2017. **2017**: p. 8748706.
32. Rathod R, Khaire A, Kemse N, Kale A, Joshi S, *Maternal omega-3 fatty acid supplementation on vitamin B12 rich diet improves brain omega-3 fatty acids, neurotrophins and cognition in the Wistar rat offspring*. Brain Dev, 2014. **36**(10): p. 853-63.
33. Yavin E, Himovichi E, Eilam R, *Delayed cell migration in the developing rat brain following maternal omega 3 alpha linolenic acid dietary deficiency*. Neuroscience, 2009. **162**(4): p. 1011-22.

34. Makrides M, Gibson RA, McPhee AJ, Yelland L, Quinlivan J, Ryan P; *Effect of DHA supplementation during pregnancy on maternal depression and neurodevelopment of young children: a randomized controlled trial*. JAMA, 2010. **304**(15): p. 1675-83.
35. Makrides M, Gould JF, Gawlik NR, Yelland LN, Smithers LG, Anderson PJ, Gibson RA, *Four-year follow-up of children born to women in a randomized trial of prenatal DHA supplementation*. JAMA, 2014. **311**(17): p. 1802-4.
36. Campoy C, Escolano-Margarit MV, Ramos R, Parrilla-Roure M, Csábi G, Beyer J, Ramirez-Tortosa MC, Molloy AM, Decsi T, Koletzko BV, *Effects of prenatal fish-oil and 5-methyltetrahydrofolate supplementation on cognitive development of children at 6.5 y of age*. Am J Clin Nutr, 2011. **94**(6 Suppl): p. 1880S-1888S.
37. de Groot RH, Adam J, Jolles J, Hornstra, *Alpha-linolenic acid supplementation during human pregnancy does not effect cognitive functioning*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2004. **70**(1): p. 41-7.
38. Dunstan JA, Simmer K, Dixon G, Prescott SL, *Cognitive assessment of children at age 2(1/2) years after maternal fish oil supplementation in pregnancy: a randomised controlled trial*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2008. **93**(1): p. F45-50.
39. Gould JF, Makrides M, Colombo J, Smithers LG, *Randomized controlled trial of maternal omega-3 long-chain PUFA supplementation during pregnancy and early childhood development of attention, working memory, and inhibitory control*. Am J Clin Nutr, 2014. **99**(4): p. 851-9.
40. Helland IB, Smith L, Blomén B, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA, *Effect of supplementing pregnant and lactating mothers with n-3 very-long-chain fatty acids on children's IQ and body mass index at 7 years of age*. Pediatrics, 2008. **122**(2): p. e472-9.
41. Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA., *Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age*. Pediatrics, 2003. **111**(1): p. e39-44.
42. Judge MP, Harel O, Lammi-Keefe CJ, *Maternal consumption of a docosahexaenoic acid-containing functional food during pregnancy: benefit for infant performance on problem-solving but not on recognition memory tasks at age 9 mo*. Am J Clin Nutr, 2007. **85**(6): p. 1572-7.
43. van Goor SA, Dijck-Brouwer DA, Erwich JJ, Schaafsma A, Hadders-Algra M *The influence of supplemental docosahexaenoic and arachidonic acids during pregnancy and lactation on neurodevelopment at eighteen months*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2011. **84**(5-6): p. 139-46.
44. Gould JF, Treyvaud K, Yelland LN, Anderson PJ, Smithers LG, McPhee AJ, Makrides M *Seven-Year Follow-up of Children Born to Women in a Randomized Trial of Prenatal DHA Supplementation*. JAMA, 2017. **317**(11): p. 1173-1175.
45. Ramakrishnan U, Gonzalez-Casanova I, Schnaas L, DiGirolamo A, Quezada AD, Pallo BC, Hao W, Neufeld LM, Rivera JA, Stein AD, Martorell R *Prenatal supplementation with DHA improves attention at 5 y of age: a randomized controlled trial*. Am J Clin Nutr, 2016. **104**(4): p. 1075-1082.
46. Mulder KA, King DJ, Innis SM, *Omega-3 fatty acid deficiency in infants before birth identified using a randomized trial of maternal DHA supplementation in pregnancy*. PLoS One, 2014. **9**(1): p. e83764.

47. Mulder KA, Elango R, Innis SM, *Fetal DHA inadequacy and the impact on child neurodevelopment: a follow-up of a randomised trial of maternal DHA supplementation in pregnancy*. Br J Nutr, 2018. **119**(3): p. 271-279.
48. Mendez MA, Torrent M, Julvez J, Ribas-Fitó N, Kogevinas M, Sunyer J., *Maternal fish and other seafood intakes during pregnancy and child neurodevelopment at age 4 years*. Public Health Nutr, 2009. **12**(10): p. 1702-10.
49. Haggarty P, *Meeting the fetal requirement for polyunsaturated fatty acids in pregnancy*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2014. **17**(2): p. 151-5.
50. Campbell FM, Taffesse S, Gordon MJ, Dutta-Roy AK., *Plasma membrane fatty-acid-binding protein in human placenta: identification and characterization*. Biochem Biophys Res Commun, 1995. **209**(3): p. 1011-7.
51. Gil-Sanchez A, Demmelmair H, Parrilla JJ, Koletzko B, Larqué E., *Mechanisms involved in the selective transfer of long chain polyunsaturated Fatty acids to the fetus*. Front Genet, 2011. **2**: p. 57.
52. Larque E, Demmelmair H, Gil-Sánchez A, Prieto-Sánchez MT, Blanco JE, Pagán A, Faber FL, Zamora S, Parrilla JJ, Koletzko B, *Placental transfer of fatty acids and fetal implications*. Am J Clin Nutr, 2011. **94**(6 Suppl): p. 1908S-1913S.
53. Haggarty P, *Effect of placental function on fatty acid requirements during pregnancy*. Eur J Clin Nutr, 2004. **58**(12): p. 1559-70.
54. Ouellet M, Emond V, Chen CT, Julien C, Bourasset F, Oddo S, LaFerla F, Bazinet RP, Calon F, *Diffusion of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids through the blood-brain barrier: An in situ cerebral perfusion study*. Neurochem Int, 2009. **55**(7): p. 476-82.
55. Ahmad A, Moriguchi T, Salem N, *Decrease in neuron size in docosahexaenoic acid-deficient brain*. Pediatr Neurol, 2002. **26**(3): p. 210-8.
56. Martinez M, *Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development*. J Pediatr, 1992. **120**(4 Pt 2): p. S129-38.
57. Brown AS, Deicken RF, Vinogradov S, Kremen WS, Poole JH, Penner JD, Kochetkova A, Kern D, Schaefer CA, *Prenatal infection and cavum septum pellucidum in adult schizophrenia*. Schizophr Res, 2009. **108**(1-3): p. 285-7.
58. Hulshoff Pol HE, Hoek HW, Susser E, Brown AS, Dingemans A, Schnack HG, van Haren NE, Pereira Ramos LM, Gispen-de Wied CC, Kahn RS, *Prenatal exposure to famine and brain morphology in schizophrenia*. Am J Psychiatry, 2000. **157**(7): p. 1170-2.
59. Sowell ER, Mattson SN, Kan E, Thompson PM, Riley EP, Toga AW., *Abnormal cortical thickness and brain-behavior correlation patterns in individuals with heavy prenatal alcohol exposure*. Cereb Cortex, 2008. **18**(1): p. 136-44.
60. Buss C, Davis EP, Shahbaba B, Pruessner JC, Head K, Sandman CA, *Maternal cortisol over the course of pregnancy and subsequent child amygdala and hippocampus volumes and affective problems*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. **109**(20): p. E1312-9.
61. Geuze E, Vermetten E, Bremner JD, *MR-based in vivo hippocampal volumetrics: 2. Findings in neuropsychiatric disorders*. Mol Psychiatry, 2005. **10**(2): p. 160-84.
62. Squire LR, *Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans*. Psychol Rev, 1992. **99**(2): p. 195-231.

63. Fox NC, Warrington EK, Freeborough PA, Hartikainen P, Kennedy AM, Stevens JM, Rossor MN, *Presymptomatic hippocampal atrophy in Alzheimer's disease. A longitudinal MRI study.* Brain, 1996. **119 (Pt 6)**: p. 2001-7.
64. Humphrey T, *Some observations on the development of the human hippocampal formation.* Trans Am Neurol Assoc., 1964. **89:207-9**.
65. Titova OE, Sjögren P, Brooks SJ, Kullberg J, Ax E, Kilander L, Riserus U, Cederholm T, Larsson EM, Johansson L, Ahlström H, Lind L, Schiöth HB, Benedict C., *Dietary intake of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids is linked to gray matter volume and cognitive function in elderly.* Age (Dordr), 2013. **35(4)**: p. 1495-505.
66. Spong CY, *Defining "term" pregnancy: recommendations from the Defining "Term" Pregnancy Workgroup.* JAMA, 2013. **309(23)**: p. 2445-6.
67. Hellmuth C, Weber M, Koletzko B, Peissner W, *Nonesterified fatty acid determination for functional lipidomics: comprehensive ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry quantitation, qualification, and parameter prediction.* Anal Chem, 2012. **84(3)**: p. 1483-90.
68. Lindsa KL, Hellmuth C, Uhl O, Buss C, Wadhwa PD, Koletzko B, Entringer S, *Longitudinal Metabolomic Profiling of Amino Acids and Lipids across Healthy Pregnancy.* PLoS One, 2015. **10(12)**: p. e0145794.
69. Gilmore JH, Lin W, Prastawa MW, Looney CB, Vetsa YS, Knickmeyer RC, Evans DD, Smith JK, Hamer RM, Lieberman JA, Gerig G. *Regional gray matter growth, sexual dimorphism, and cerebral asymmetry in the neonatal brain.* J Neurosci, 2007. **27(6)**: p. 1255-60.
70. Moog NK, Entringer S, Rasmussen JM, Styner M, Gilmore JH, Kathmann N, Heim CM, Wadhwa PD, Buss C. *Intergenerational Effect of Maternal Exposure to Childhood Maltreatment on Newborn Brain Anatomy.* Biol Psychiatry, 2018. **83(2)**: p. 120-127.
71. ChereL M, Budin F, Prastawa M, Gerig G, Lee K, Buss C, Lyall A, Consing KZ, Styner M., *Automatic Tissue Segmentation of Neonate Brain MR Images with Subject-specific Atlases.* Proc SPIE Int Soc Opt Eng, 2015. **9413**.
72. Collaboratory, N.T.a., https://www.nitrc.org/projects/unc_brain_atlas. 2019.
73. Wang J, Vachet C, Rumple A, Gouttard S, Ouziel C, Perrot E, Du G, Huang X, Gerig G, Styner M *Multi-atlas segmentation of subcortical brain structures via the AutoSeg software pipeline.* Front Neuroinform, 2014. **8**: p. 7.
74. Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, Gerig G., *User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability.* Neuroimage, 2006. **31(3)**: p. 1116-28.
75. Maltbie E, Bhatt K, Paniagua B, Smith RG, Graves MM, Mosconi MW, Peterson S, White S, Blocher J, El-Sayed M, Hazlett HC, Styner MA *Asymmetric bias in user guided segmentations of brain structures.* Neuroimage, 2012. **59(2)**: p. 1315-23.
76. Buss C, Entringer S, Davis EP, Hobel CJ, Swanson JM, Wadhwa PD, Sandman CA. *Impaired executive function mediates the association between maternal pre-pregnancy body mass index and child ADHD symptoms.* PLoS One, 2012. **7(6)**: p. e37758.
77. Bliddal M, Olsen J, Støvring H, Eriksen HL, Kesmodel US, Sørensen TI, Nøhr EA, *Maternal pre-pregnancy BMI and intelligence quotient (IQ) in 5-year-old children: a cohort based study.* PLoS One, 2014. **9(4)**: p. e94498.

78. Crisham Janik MD, Newman TB, Cheng YW, Xing G, Gilbert WM, Wu YW., *Maternal diagnosis of obesity and risk of cerebral palsy in the child.* J Pediatr, 2013. **163**(5): p. 1307-12.
79. Stachowiak EK, Oommen S, Vasu VT, Srinivasan M, Stachowiak M, Gohil K, Patel MS, *Maternal obesity affects gene expression and cellular development in fetal brains.* Nutr Neurosci, 2013. **16**(3): p. 96-103.
80. Buss C, Davis EP, Hobel CJ, Sandman CA, *Maternal pregnancy-specific anxiety is associated with child executive function at 6-9 years age.* Stress, 2011. **14**(6): p. 665-76.
81. Vollet K, Ghassabian A, Sundaram R, Chahal N, Yeung EH, *Prenatal fish oil supplementation and early childhood development in the Upstate KIDS Study.* J Dev Orig Health Dis, 2017: p. 1-9.
82. Lapillonne A, Groh-Wargo S, Gonzalez CH, Uauy R., *Lipid needs of preterm infants: updated recommendations.* J Pediatr, 2013. **162**(3 Suppl): p. S37-47.
83. Makrides M, *DHA supplementation during the perinatal period and neurodevelopment: Do some babies benefit more than others?* Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2013. **88**(1): p. 87-90.
84. Makrides M, Gibson RA, McPhee AJ, Collins CT, Davis PG, Doyle LW, Simmer K, Colditz PB, Morris S, Smithers LG, Willson K, Ryan P. *Neurodevelopmental outcomes of preterm infants fed high-dose docosahexaenoic acid: a randomized controlled trial.* JAMA, 2009. **301**(2): p. 175-82.
85. Vollet K, Ghassabian A, Sundaram R, Chahal N, Yeung EH, *Prenatal fish oil supplementation and early childhood development in the Upstate KIDS Study.* J Dev Orig Health Dis, 2017. **8**(4): p. 465-473.
86. Bakker EC, Ghys AJ, Kester AD, Vles JS, Dubas JS, Blanco CE, Hornstra G *Long-chain polyunsaturated fatty acids at birth and cognitive function at 7 y of age.* Eur J Clin Nutr, 2003. **57**(1): p. 89-95.
87. Biesalski HK, Bischoff S. C., Puchstein C., *Ernährungsmedizin. Nach dem Curriculum Ernährungsmedizin der Bundesärztekammer, 3. Auflage.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2004.
88. Löffler G, *Basiswissen Biochemie.* Springer Verlag, 7. Auflage, 2008.
89. Elmadfa I, L.C., *Ernährung des Menschen.* 4. Auflage. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 2004
90. Königshoff M, *Kurzlehrbuch Biochemie.* Georg Thieme Verlag, 2004.
91. Henderson WR, Astley SJ, McCready MM, Kushmerick P, Casey S, Becker JW, Ramsey BW, *Oral absorption of omega-3 fatty acids in patients with cystic fibrosis who have pancreatic insufficiency and in healthy control subjects.* J Pediatr, 1994. **124**(3): p. 400-8.
92. Haggarty P, *Fatty acid supply to the human fetus.* Annu Rev Nutr, 2010. **30**: p. 237-55.
93. Vermunt SH, Mensink RP, Simonis MM, Hornstra G., *Effects of dietary alpha-linolenic acid on the conversion and oxidation of 13C-alpha-linolenic acid.* Lipids, 2000. **35**(2): p. 137-42.
94. Emken EA, Adlof RO, Gulley RM, *Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males.* Biochim Biophys Acta, 1994. **1213**(3): p. 277-88.

95. Koletzko B, Lattka E, Zeilinger S, Illig T, Steer C., *Genetic variants of the fatty acid desaturase gene cluster predict amounts of red blood cell docosahexaenoic and other polyunsaturated fatty acids in pregnant women: findings from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children*. Am J Clin Nutr, 2011. **93**(1): p. 211-9.
96. Steer CD, Hibbeln JR, Golding J, Davey Smith G *Polyunsaturated fatty acid levels in blood during pregnancy, at birth and at 7 years: their associations with two common FADS2 polymorphisms*. Hum Mol Genet, 2012. **21**(7): p. 1504-12.
97. Steer CD, Lattka E, Koletzko B, Golding J, Hibbeln JR. *Maternal fatty acids in pregnancy, FADS polymorphisms, and child intelligence quotient at 8 y of age*. Am J Clin Nutr, 2013. **98**(6): p. 1575-82.
98. Burdge G, *Alpha-linolenic acid metabolism in men and women: nutritional and biological implications*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2004. **7**(2): p. 137-44.
99. Agostoni C, Riva E, Giovannini M, Pinto F, Colombo C, Risé P, Galli C, Marangoni F, *Maternal smoking habits are associated with differences in infants' long-chain polyunsaturated fatty acids in whole blood: a case-control study*. Arch Dis Child, 2008. **93**(5): p. 414-8.
100. Lin YH, Llanos A, Mena P, Uauy R, Salem N Jr, Pawlosky RJ., *Compartmental analyses of 2H5-alpha-linolenic acid and C-U-eicosapentaenoic acid toward synthesis of plasma labeled 22:6n-3 in newborn term infants*. Am J Clin Nutr, 2010. **92**(2): p. 284-93.
101. Escolano-Margarit MV, Ramos R, Beyer J, Csábi G, Parrilla-Roure M, Cruz F, Perez-Garcia M, Hadders-Algra M, Gil A, Decsi T, Koletzko BV, Campoy C., *Prenatal DHA status and neurological outcome in children at age 5.5 years are positively associated*. J Nutr, 2011. **141**(6): p. 1216-23.
102. Schoemaker D, Buss C, Head K, Sandman CA, Davis EP, Chakravarty MM, Gauthier S, Pruessner J *Hippocampus and amygdala volumes from magnetic resonance images in children: Assessing accuracy of FreeSurfer and FSL against manual segmentation*. Neuroimage, 2016. **129**: p. 1-14.
103. Cao D, Kevala K, Kim J, Moon HS, Jun SB, Lovinger D, Kim HY. *Docosahexaenoic acid promotes hippocampal neuronal development and synaptic function*. J Neurochem, 2009. **111**(2): p. 510-21.
104. Grayson DS, Kroenke CD, Neuringer M, Fair DA., *Dietary omega-3 fatty acids modulate large-scale systems organization in the rhesus macaque brain*. J Neurosci, 2014. **34**(6): p. 2065-74.
105. Almeida DM, Jandacek RJ, Weber WA, McNamara RK, *Docosahexaenoic acid biostatus is associated with event-related functional connectivity in cortical attention networks of typically developing children*. Nutr Neurosci, 2017. **20**(4): p. 246-254.
106. Graham AM, Buss C, Rasmussen JM, Rudolph MD, Demeter DV, Gilmore JH, Styner M, Entringer S, Wadhwa PD, Fair DA, *Implications of newborn amygdala connectivity for fear and cognitive development at 6-months-of-age*. Dev Cogn Neurosci, 2016. **18**: p. 12-25.
107. Graham AM, Rasmussen JM, Entringer S, Ben Ward E, Rudolph MD, Gilmore JH, Styner M, Wadhwa PD, Fair DA, Buss C, *Maternal Cortisol Concentrations During Pregnancy and Sex-Specific Associations With Neonatal Amygdala Connectivity and Emerging Internalizing Behaviors*. Biol Psychiatry, 2019. **85**(2): p. 172-181.
108. Rogers CE, Sylvester CM, Mintz C, Kenley JK, Shimony JS, Barch DM, Smyser CD. *Neonatal Amygdala Functional Connectivity at Rest in Healthy and Preterm Infants*

- and Early Internalizing Symptoms*. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, 2017. **56**(2): p. 157-166.
109. Glaas SR, Ludwig J, Pietzner D, Lubowicka M, Cook M, Hiemisch A, Kiess W, *Entwicklungsdiagnostik mit den Bayley Scales of Infant and Toddler Development III*. Schattauer GmbH, 2017. **17**(03): p. 178-184.
 110. Green SB, *How Many Subjects Does It Take To Do A Regression Analysis*. Multivariate Behav Res, 1991. **26**(3): p. 499-510.
 111. Ernährung, D.G.f., *Regelmäßig Fisch auf den Tisch!* Presseinformation: Presse, DGE aktuell, 2016.
 112. Davidson PW, Strain JJ, Myers GJ, Thurston SW, Bonham MP, Shamlaye CF, Stokes-Riner A, Wallace JM, Robson PJ, Duffy EM, Georger LA, Sloane-Reeves J, Cernichiari E, Canfield RL, Cox C, Huang LS, Janciuras J, Clarkson TW, *Neurodevelopmental effects of maternal nutritional status and exposure to methylmercury from eating fish during pregnancy*. Neurotoxicology, 2008. **29**(5): p. 767-75.
 113. Vejrup K, Schjølberg S, Knutsen HK, Kvale HE, Brantsæter AL, Meltzer HM, Alexander J, Magnus P, Haugen M, *Prenatal methylmercury exposure and language delay at three years of age in the Norwegian Mother and Child Cohort Study*. Environ Int, 2016. **92-93**: p. 63-9.
 114. Kim H, Lee E, Kim Y, Ha EH, Chang N, *Association between maternal intake of n-6 to n-3 fatty acid ratio during pregnancy and infant neurodevelopment at 6 months of age: results of the MOCEH cohort study*. Nutr J, 2017. **16**(1): p. 23.
 115. Lopez-Vicente M, Ribas Fitó N, Vilor-Tejedor N, Garcia-Esteban R, Fernández-Barrés S, Dadvand P, Murcia M, Rebagliato M, Ibarluzea J, Lertxundi A, Fernández-Somoano A, Tardón A, López-Sabater MC, Romaguera D, Vrijheid M, Sunyer J, Julvez J. *Prenatal Omega-6:Omega-3 Ratio and Attention Deficit and Hyperactivity Disorder Symptoms*. J Pediatr, 2019. **209**: p. 204-211 e4.
 116. Rouw E, von Gartzen A, Weissenborn A, *The importance of breastfeeding for the infant*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2018. **61**(8): p. 945-951.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Leonie Rosemarie Klaumünzer, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Einfluss mütterlicher DHA-Plasmakonzentrationen während der Schwangerschaft auf das Gehirnvolumen des Kindes bei der Geburt

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Ort, Datum

Unterschrift

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. Claudia Buß, für die Betreuung dieser Arbeit und für ihre freundliche Unterstützung. Der regelmäßige, fachliche Austausch war eine große Hilfe und hat mich positiv beeinflusst. Ich danke ihr besonders für das stetige offene Ohr und die angenehme Atmosphäre.

Herzlich danken möchte ich auch meinen Eltern und Geschwistern, die mich sehr aufmerksam und vielseitig auf meinem bisherigen Weg unterstützt und begleitet haben.

Darüber hinaus gilt mein Dank auch meiner Tante und meinen Freunden, ohne deren aufheiternden Zuspruch das Studium mit Dissertation niemals möglich gewesen wäre.