
Aus dem
CharitéCentrum für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin
mit Perinatalzentrum und Humangenetik (CC17) Klinik
für Neonatologie
Direktor: Univ. Prof. Dr. med. Christoph Bühner

HABILITATIONSSCHRIFT

Bedarfsgerechte enterale Ernährung von sehr untergewichtigen Frühgeborenen

zur Erlangung der Venia Legendi
für das Fach Kinderheilkunde

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Andrea Loui

geboren am 03.02.1963 in Rostock

eingereicht: Februar 2015
Dekan: Prof. Dr. Axel R. Pries
1. Gutachter: Prof. Dr. Jörg Dötsch
2. Gutachter: Prof. Dr. Christian Poets

Nico, Isabel und Frederik

sowie

in memoriam meinen Eltern

Ursula und Karl-Heinz Loui

gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
1. Einleitung	2
1.1 Historisches zur Ernährung von Frühgeborenen mit Muttermilch im 20. Jahrhundert	2
1.2 Grundkonzept der Ernährung von sehr unreifen Frühgeborenen	3
1.3 Überwachung und Steuerung der Ernährung	7
1.4 Funktionen und Mangelercheinungen ausgewählter Spurenelemente	10
1.5 Funktionen ausgewählter antioxidativer Enzyme	14
1.6 Funktionen und Mangelercheinungen der Mineralien Kalzium, Phosphat und Magnesium	15
1.7 Bedeutung von Protein in der Ernährung von Frühgeborenen	17
1.8 Zielsetzung der Arbeit	17
2. Verzeichnis der zur kumulativen Habilitation zusammengefassten Publikationen	19
3. Fragestellungen und Ergebnisse in den vorgestellten Originalarbeiten zum Thema	20
3.1 Zinkbilanzstudien bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1000 g	20

3.2	Kalzium-, Phosphat- und Magnesium-Bilanz bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1000 g: FM-85 (alte Rezeptur) deckt nicht den Mineralbedarf	28
3.3	Muttermilch-Ernährung von sehr untergewichtigen (< 1500 g) Frühgeborenen mit oder ohne zusätzliche Spurenelemente: Eine randomisierte Studie	41
3.4	Selenstatus bei Reifgeborenen und Frühgeborenen in den ersten Lebensmonaten	53
3.5	Wachstum von sehr untergewichtigen Frühgeborenen während der ersten fünf Lebenswochen	62
3.6	Spurenelemente und antioxidative Enzyme bei extrem untergewichtigen Frühgeborenen (< 1000 g)	72
3.7	Wachstum von sehr untergewichtigen Frühgeborenen unter erhöhter Zufuhr von Aminosäuren und Protein	83
4.	Diskussion der Ergebnisse und Ausblick	94
4.1	Spurenelemente in der Ernährung von Frühgeborenen	94
4.2	Mineralien in der Ernährung von Frühgeborenen	97
4.3	Protein in der Ernährung von Frühgeborenen	100
4.4	Kommerzielle Muttermilch- Fortifier und ihre Limitierungen	101
4.5	„Aggressive“ Ernährung von Frühgeborenen, Wachstum und Entwicklung	103
4.6	Woran sollte sich die Ernährung von Frühgeborenen orientieren?	104
4.7	Ausblick	106

5. Zusammenfassung	108
6. Literaturverzeichnis	110
Danksagung	125
Eidesstattliche Erklärung gemäß § 4 Abs. 3 der HabOMed der Charité	127

Abkürzungsverzeichnis

AP	Alkalische Phosphatase
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
Ca	Kalzium
Fe	Eisen
Fortifier	Muttermilch-Verstärker
GSH-Px	Glutathionperoxidase
ICP-AES	Induktiv gekoppelte Plasma- Atom-Emissions-Spektrophotometrie
ICP-MS	Induktiv gekoppelte Plasma-Massen-Spektrometrie
INAA	Instrumentelle Neutronen-Aktivierungsanalyse
IVH	Intraventrikuläre Hirnblutung
Mg	Magnesium
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
P	Phosphat
ROP	Retinopathia prematurorum
Se	Selen
SOD	Superoxiddismutase
SSW	Schwangerschaftswoche
Zn	Zink

1. Einleitung

1.1 Historisches zur Ernährung von Frühgeborenen mit Muttermilch im 20. Jahrhundert

Als zu Beginn des 20. Jahrhunderts mit der Einrichtung spezialisierter Institutionen erstmals Frühgeborene in größerer Zahl überlebten, wurde Muttermilch als die Ernährung der ersten Wahl für das Frühgeborene angesehen. Künstliche Nahrung war mit Nachteilen wie deutlich höhere Säuglingssterblichkeit, metabolische Azidose, Azotämie und Hyperammonämie verbunden. Tarnier und Budin waren Wegbereiter einer neuen Ära der Versorgung von Neugeborenen und lehrten, das Frühgeborene sehr früh nach der Geburt mit Muttermilch zu ernähren [1]. Hess empfahl dieses Vorgehen bereits 12 Stunden nach der Geburt zu beginnen und die Muttermilch über drei Wochen schrittweise auf 140-200 ml/kg/Tag zu steigern [2]. Tarnier führte die Technik der Sondenernährung ein. Hess entwickelte eine Magensonde mit gravimetrischem Fluss [3]. Ende des 19. Jahrhunderts wurde der Grundbedarf an Energie in einem geschlossenen System, ähnlich einer indirekten Kalorimetrie, durch Rubner und Heubner bestimmt und in den folgenden Jahren von anderen Autoren bestätigt. Frühgeborene erhielten bereits zu der Zeit eine hohe Energiezufuhr von 150-200 kcal/kg/Tag [3]. Gordon und Levine untersuchten 1930 die Energiezufuhr erneut mittels einer Kalorimetrie. Der tägliche Energiebedarf wurde mit 120 kcal/kg/Tag bestimmt, davon 68 kcal/kg/Tag für den Anabolismus, 18 kcal/kg/Tag Verluste im Stuhl und 34 kcal/kg/Tag als gespeicherte Energie. Die mittlere Gewichtszunahme betrug 16 g/kg/Tag [4]. Diese Daten sind bis heute gültig. Wegen der besseren Gewichtszunahme mit Formulanahrung erfolgte vorübergehend eine Abwendung von der Muttermilchernährung [5]. 1972 zeigte Kagan, dass diese erhöhte Gewichtszunahme auf die vermehrte Flüssigkeitsablagerung im Extrazellularraum zurückzuführen war und es kam wieder zu einer Rückbesinnung auf Muttermilch [6]. In den 80er Jahren des 20. Jahrhunderts wurde gezeigt, dass Frühgeborene, die die Muttermilch der eigenen Mutter erhielten, besser gediehen, als Frühgeborene, denen gepoolte Spendermilch gefüttert wurde. Das wurde auf den höheren Proteingehalt der Muttermilch der Mütter von Frühgeborenen, verglichen mit Muttermilch von Müttern von Reifgeborenen, zurückgeführt. Seit den 40er Jahren des 20. Jahr-

hunderts war bekannt, dass Muttermilch allein den Bedarf von Frühgeborenen an Protein, Kalzium, Phosphat, Natrium, Eisen, Vitaminen und Spurenelementen nicht decken kann. In den 70er Jahren des 20. Jahrhunderts erkannte man die Bedeutung der Qualität des Proteins in der Ernährung [7]. Diese Erkenntnis verlieh der Verwendung von Muttermilch neuen Aufschwung. In den 80er und 90er Jahren des 20. Jahrhunderts wurden Fortifier (Muttermilch-Verstärker) entwickelt, um die Muttermilch zusätzlich mit Protein, Mineralien, Vitaminen und seit 2001 auch mit Spurenelementen anzureichern. Parallel hierzu verlief die Entwicklung der parenteralen Ernährung und der speziellen Formulanahrungen für Frühgeborene [3].

1.2 Grundkonzept der Ernährung von sehr unreifen Frühgeborenen

Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g sind unter anderem gekennzeichnet durch eine deutliche Unreife des Magen-Darm-Traktes und des Stoffwechsels. Die Passagezeit der Nahrung ist erhöht und die Motilität des Darmes ist erniedrigt. Das Mekonium kann nur schwer selbstständig ausgeschieden werden. Enzymsysteme des Stoffwechsels sind unreif, sodass die Nährstoffe unzureichend verarbeitet werden und Imbalancen auftreten können. Der Saug- und Schluck-Reflex entwickelt sich erst mit korrigiert 34 SSW, sodass eine Sondierung der Nahrung mindestens bis zu diesem Reifealter notwendig ist. Der größte Anteil an Nährstoffen, Mineralien und Spurenelementen wird im dritten Trimenon im Feten gespeichert. Das hat zur Folge, dass sehr unreife Frühgeborene mit erniedrigten Speichern geboren werden. Andererseits wachsen diese Kinder in den ersten Wochen sehr schnell. Diese besondere Situation macht eine spezielle Ernährung erforderlich.

Das Konzept der parenteralen und enteralen Ernährung ist in den letzten 15 Jahren umfassend weiterentwickelt worden. Die früheren Konzepte sind teilweise in den beigefügten Originalarbeiten ersichtlich. Im Folgenden soll das aktuell gültige Konzept der Ernährung unserer Klinik dargestellt werden, das sich an den aktuellen Ernährungsrichtlinien orientiert [8-10, Tabelle 1] und als verbindliches Ernährungsschema vorliegt.



Abb. 1 Zwillingenfrühgeborene 29+4 SSW am 7. Lebenstag, Mädchen (links, Geburtsgewicht 1007 g) und Knabe (rechts, Geburtsgewicht 1074 g);
Quelle: Loui privat

Der Bedarf an Nährstoffen, Mineralien und Spurenelementen ist unmittelbar postnatal hoch. Ziel ist es, den intrauterinen plazentaren Substratfluss in annähernd gleicher Höhe postnatal aufrechtzuerhalten. Deshalb wird am 1. Lebenstag neben einer Glukose-Elektrolyt-Infusion mit einer parenteralen Zufuhr von 2,0 g/kg/Tag Aminosäuren und von 1,0 g/kg/Tag Fett begonnen, die dann täglich je um 0,5 g/kg/Tag erhöht wird. Angestrebt wird eine gemischt parenterale und enterale Zufuhr von 3,5 g/kg/Tag (> 1000 g Geburtsgewicht) oder 4,0 g/kg/Tag (< 1000 g Geburtsgewicht) Protein und 3,0 g/kg/Tag (> 1000 g Geburtsgewicht) oder 3,5 g/kg/Tag (< 1000 g Geburtsgewicht) Fett. Mineralien, Spurenelemente und Vitamine werden in der Regel ab dem 5. Lebenstag der parenteralen Ernährung zugesetzt. Parallel dazu wird möglichst 12 Stunden postnatal mit der enteralen Ernährung mit 12 Mahlzeiten à 1,0 ml am besten mit Muttermilch/ Frauenmilch begonnen. Diese wird täglich 12 mal um 1 ml gesteigert, wenn klinische Zeichen einer Nahrungsunverträglichkeit, wie Erbrechen, vorgewölbttes schmerzempfindliches Abdomen und hohes Magenrestvolumen, fehlen. In den ersten Lebenstagen ist die Mobilisierung des Mekoniums durch Laxantieneinläufe für die Nahrungsverträglichkeit essentiell. Bei guter Verträglichkeit wird die Muttermilch ab dem 5. Lebenstag mit einem Fortifier (FM 85, Fa. Nestlé Nutrition GmbH oder Aptamil FMS, Fa. Milupa

GmbH) und ab dem 10. Lebenstag mit einem Proteinsupplement (Aptamil Protein plus, Fa. Milupa GmbH) angereichert (Tabelle 2). Zielparameter der enteralen Ernährung sind 110-135 kcal/kg/Tag Energie und 4,5 g/kg/Tag Protein [8, Tabelle 1]. Im Falle einer Wachstumsstörung oder einer vermehrten Atemarbeit ist eine Anreicherung der Nahrung mit Protein bis 5,0 g/kg/Tag und mit Fett (Ceresöl MCT, Dr. Schär Deutschland GmbH) bis 150 kcal/kg/Tag möglich.

Tab. 1 Empfehlungen der ESPGHAN zur enteralen Zufuhr von Makro- und Mikronährstoffen von 2010 (Auszug) [8]

	Pro kg/Tag
Flüssigkeit (ml)	135-200
Energie (kcal)	110-135
Protein (g)	4,0-4,5 (Geburtsgewicht < 1000 g) 3,5-4,0 (Geburtsgewicht 1000 bis 1800 g)
Lipide (g)	4,8-6,6
Kohlenhydrate (g)	11,6-13,2
Kalzium (mg)	120-140
Phosphat (mg)	60-90
Magnesium (mg)	8,0-15,0
Zink (mg)	1,1-2,0
Kupfer (µg)	100-132
Selen (µg)	5,0-10,0

Tab. 2 Zusammensetzung der 2014 in Deutschland kommerziell erhältlichen Fortifier für Muttermilch und die durch sie erreichbare Zufuhr ausgewählter Inhaltsstoffe

	FM 85 1 g Pulver enthält	Zufuhr mit 160 ml/kg/Tag Muttermilch plus FM 85 5%	Aptamil FMS 1 g Pulver enthält	Zufuhr mit 160 ml/kg/Tag Muttermilch plus Aptamil FMS 4.4%	Aptamil Protein plus 1 g Pulver enthält
Energie (kcal)	3,5	137	3,4	128	0
Protein (g)	0,20	4,60	0,25	4,20	0,82
Lipide (g)	0,004	7,2	0	5,6	0
Kohlenhydrate (g)	0,66	19,40	0,61	16,00	0
Kalzium (mg)	15,0	189	15,0	146	0
Phosphat (mg)	9,00	110	8,64	84	0
Magnesium (mg)	0,48	10,20	1,14	13,00	0
Zink (mg)	0,16	2,10	0,14	1,57	0
Kupfer (µg)	8,00	130	7,95	120	0
Selen (µg)	0,30	6,60	0,39	6,24	0
Mangan	1,00	12,00	1,84	13,60	0
Vitamin A (µg)	30	451	53	504	0
Vitamin D (µg)	0,50	4,80	1,14	8,32	0
Vitamin E (mg)	0,40	4,30	0,82	6,14	0
Vitamin K (µg)	0,80	8,20	1,45	11,52	0

Alle Daten nach Herstellerangaben berechnet.

FM 85, Nestlé BEBA FM 85 (Fa. Nestlé Nutrition GmbH); Milupa Aptamil FMS (Fa. Milupa GmbH);

Aptamil Protein plus (Fa. Milupa GmbH)

1.3 Überwachung und Steuerung der Ernährung

Durch die tägliche Berechnung der individuellen Nährstoffzufuhr soll gewährleistet werden, dass die Zielparameter der Ernährung möglichst jederzeit erreicht werden. Das perzentilengerechte Wachstum wird durch die ein- bis dreitägige Messung des Körpergewichtes und die wöchentliche Messung von Kopfumfang und Körperlänge kontrolliert (Abbildungen 2 und 3). Die parenterale Ernährung wird laborchemisch mit der Messung von Blutgasanalyse, Blutbild, Blutglukose, Elektrolyte, Kreatinin, Harnstoff, Leberwerte, Triglyzeride, Cholesterin und Protein überwacht. Zum Ausschluß einer Osteopenia prematorum werden 14tägig alkalische Phosphatase, anorganisches Phosphat, ionisiertes Kalzium im Serum und Kalzium/ Kreatinin-Quotient im Spontanurin gemessen.

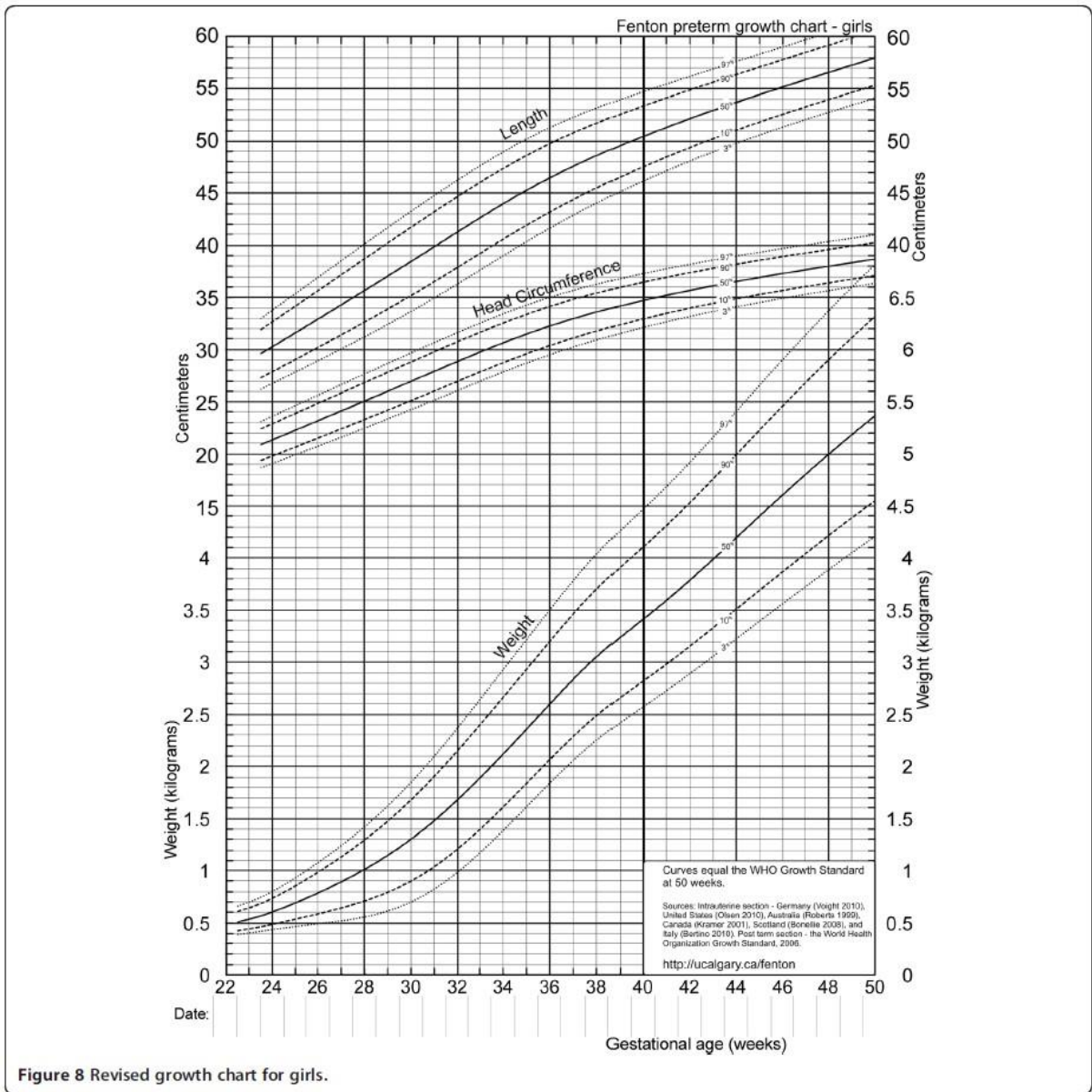


Abb. 2 Revidierte Wachstumskurven für weibliche Frühgeborene nach Fenton et al. 2013 [11]

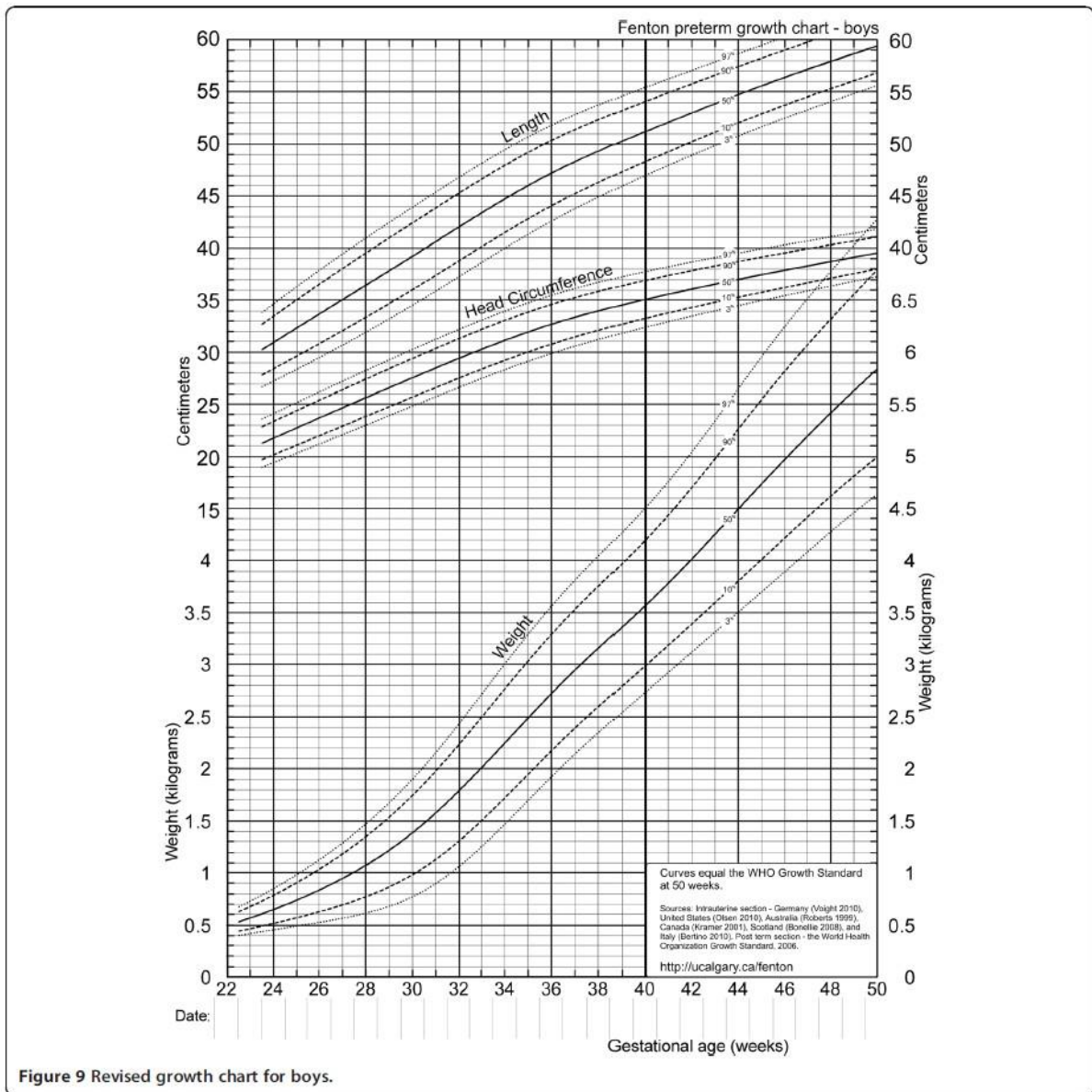


Figure 9 Revised growth chart for boys.

Abb. 3 Revidierte Wachstumskurven für männliche Frühgeborene nach Fenton et al. 2013 [11]

1.4 Funktionen und Mangerscheinungen ausgewählter Spurenelemente

Zink ist ein ubiquitär vorkommendes, essentielles Spurenelement, das als Kofaktor für ca. 300 Metalloenzyme und für verschiedene Hormone (Insulin, Wachstumshormon) bedeutsam ist. Zu den Enzymen gehören z.B. die RNA- und DNA-Polymerasen, die Superoxiddismutase (CuZnSOD), die Karboanhydrase und die alkalische Phosphatase. Zink ist erforderlich im Kohlenhydrat- und Protein-Stoffwechsel, für Zellteilung und -differenzierung sowie für die Genexpression von Transkriptionsfaktoren [12]. In der Immunabwehr ist Zink förderlich für Phagozytose, Chemotaxis, Zytotoxizität, T-Zellfunktion und Apoptose. Bereits ein milder Zinkmangel kann zu gehäuften Infektionen führen [13]. Zink ist damit essentiell für Wachstum, Immunabwehr, antioxidative Abwehr und Regulation des Stoffwechsels.



Abb. 4

Ehemaliges Frühgeborenes 24+1 SSW, Geburtsgewicht 640 g, am 93. Lebenstag, vollständig mit Muttermilch ernährt, klinische Zeichen eines Zinkmangels [16]; Quelle: Loui

Die Symptomatik eines Zinkmangels ist gekennzeichnet durch intertriginöse, blasenbildende Dermatitis (Abbildungen 4 und 5), Infektanfälligkeit, Wachstumsstörung sowie Alopezie. Zinkmangel kann auch durch genetische Mutationen bedingt sein [14,15], die einen niedrigen Zinkspiegel in der Muttermilch zur Folge haben (auch als Akrodermatitis enteropathica bezeichnet), durch eine zu niedrige Zinkaufnahme bzw. durch einen hohen Bedarf aus verschiedenen Gründen (parenterale Ernährung, extreme Unreife mit niedrigen Zinkspeichern und schnellem Wachstum). Mangerscheinungen wurden für ehemals sehr unreife Frühgeborene

und für ausschließlich gestillte Säuglinge beschrieben. Klinisch deutliche Zeichen treten dabei erst auf, wenn die Regulation über die verschiedenen Zinkpools erschöpft ist [16, 17, Abbildung 6].



Abb. 5

Ehemaliges Frühgeborenes von 26+3 SSW, Geburtsgewicht 670 g, in einem korrigierten Alter von 1,5 Monaten, klinische Zeichen eines Zinkmangels; Quelle: Loui

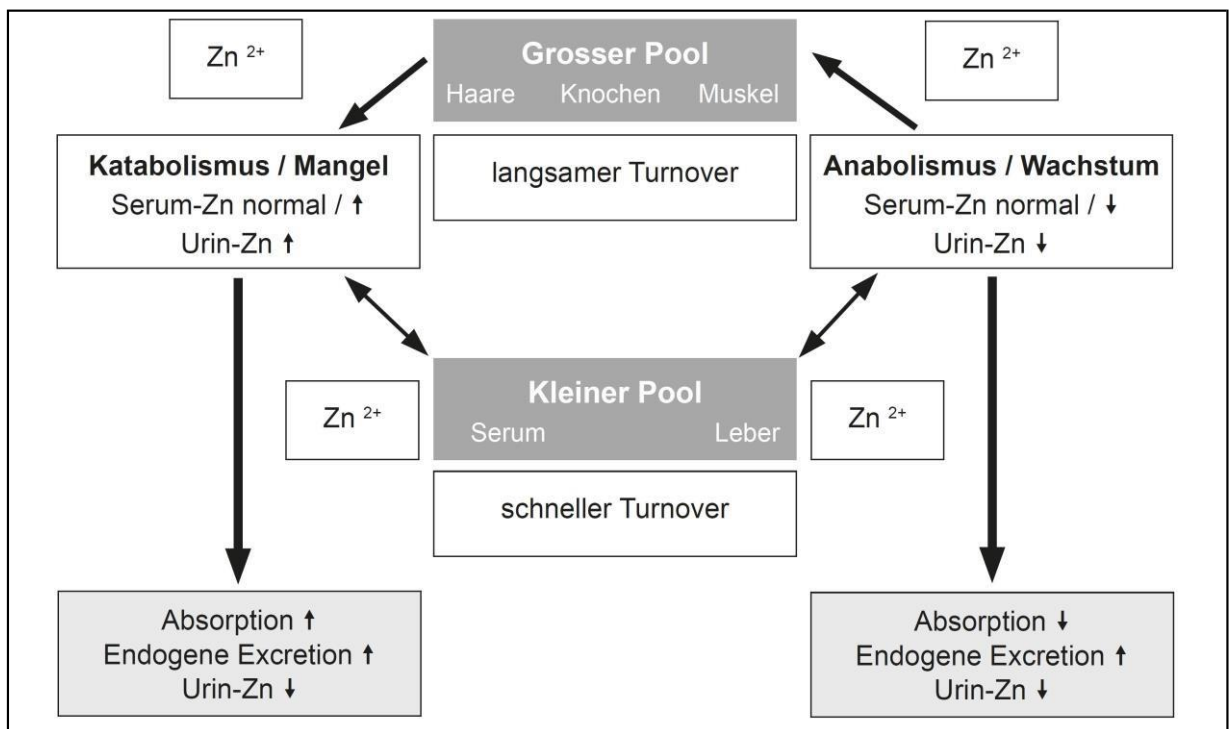


Abb. 6 Zinkhomöostase [19]

Die Zinkhomöostase wird über die fraktionelle Absorption und über die endogene Exkretion in den Gastrointestinaltrakt reguliert (Abbildung 6). Dabei korreliert die Ausscheidung über den Stuhl mit der Zinkaufnahme. Reifgeborene und Frühgeborene über 32 SSW sind in der Lage, endogenes Zink intestinal zu konservieren. Die mittlere intrauterine Aufnahme von Zink zwischen 24 und 34 SSW wurde mit 850 µg/kg/Tag ermittelt [18].

Kupfer ist ein essentielles Spurenelement, das als Bestandteil verschiedener Enzyme (z.B. Cytochrome C- Oxidase, Lysyl-Oxidase, Sulfhydryl-Oxidase, Dopamin-β-Hydroxylase, Superoxiddismutase/ CuZnSOD, Tyrosinase, Ceruloplasmin) und für die Blutgerinnungsfaktoren V und VIII wichtig ist [20]. Damit ist Kupfer bedeutsam für die Hämatopoiese, den Einbau von Eisen in Hämoglobin, die Bildung von Melanin, die Bindegewebsbildung, die Knochenmineralisierung, das Immunsystem und den Stoffwechsel [21].

Ein Kupfermangel wurde selten bei ehemaligen Frühgeborenen oder bei Patienten mit Kupfer-freier, vollparenteraler Ernährung beschrieben. Er ist gekennzeichnet durch Wachstumsstörung, gestörte Wundheilung, Neutropenie, hypochrome Anämie, Hypotonie, Apnoen, Hypothermie, Hirnschädigung, Osteoporosis, Frakturen und seltener durch Hypopigmentierung der Haut, seborrhoische Dermatitis, abnormes Haar, Diarrhoe und Hepatosplenomegalie [22, 23]. Die Menkes-Erkrankung ist genetisch bedingt durch das Fehlen oder den Defekt von zwei Kupfer-transportierenden ATPasen, die durch das *ATP7A*-Gen kodiert werden [20]. Bei einem Kupfer-Exzess führt dessen oxidatives Potential zu einer vermehrten Bildung von freien Radikalen und zur Zellschädigung.

Kupfer wird hauptsächlich aus dem Duodenum und dem Dünndarm absorbiert, über den Portalvenenkreislauf zur Leber transportiert und zum großen Teil in die Galle ausgeschieden. Die Leber ist das zentrale Organ für die Kupfer-Homöostase. Aus Muttermilch kann Kupfer zu 60 % absorbiert werden [18].

Das essentielle Spurenelement **Selen** ist als regulatorischer Enzymbestandteil bedeutsam für die antioxidative Abwehr (Glutathionperoxidasen) und die Aktivierung von T₃ aus T₄ (Jodthyronin-Deiodinasen). Auch eine wichtige Rolle in der

Myelinisierung, der Neurotransmittersynthese und der kognitiven Reifung wird ihm zugeschrieben. Bei Erwachsenen wurde für Selen eine Bedeutung in der Rekonvaleszenz von einer Sepsis gefunden [24-26]. Bei sehr untergewichtigen Frühgeborenen wurde ein Selenmangel als Risikofaktor für die Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie (BPD) angesehen [27]. Mehr als 30 Selenoproteine sind inzwischen bekannt, die Selen als Seleno-Cystein speichern und transportieren [28].

Zeichen eines Selenmangels sind eine Hämolyse sowie eine kardiale und skelettale Myopathie (sog. Keshan-Erkrankung). Mangelerscheinungen sind nach längerfristiger niedriger Selenzufuhr, z.B. unter parenteraler Ernährung, möglich. Bei Frühgeborenen sind keine Fälle eines Mangels bekannt [29,30]. Selen wird zu 80 % aus Muttermilch absorbiert [18].

Eisen ist ein sehr vielfältig wirksames Element. Einerseits ist es bei grundlegenden Mechanismen wie DNA-Replikation, zellulärer Energiestoffwechsel und Sauerstofffreisetzung wirksam. Andererseits stellt Eisen eines der am meisten toxischen Elemente dar. Freies, nicht proteingebundenes Eisen reagiert mit Sauerstoff zu Sauerstoffradikalen, die Zellen schädigen und zu ihrem Untergang führen. Freies Eisen wurde auch für Reperfusionsschäden nach hypoxisch-ischämischen Prozessen in Gehirn, Darm und Herz verantwortlich gemacht. Eine Eisenüberladung führt zu Funktionsstörungen von Gehirn, Leber und Herz. Für Frühgeborene ist eine niedrige Eisenbindungskapazität typisch, sodass die Zufuhr von Eisen in einem engen Bereich gut gesteuert werden muß. Das Frühgeborene benötigt Eisen für Erythropoiesis, Gehirnentwicklung, Muskel- und Herzfunktion [18,31,32].

Ein Eisenmangel führt zu Störungen der Erythropoiesis, des Wachstums, der neurologischen Entwicklung, der Funktionen von Herz- und Skelettmuskulatur und der gastrointestinalen Funktion. Bei Frühgeborenen < 1500 g wurde vermutet, dass freies Eisen zu einem gehäuftem Auftreten einer ROP und einer BPD führt [33,34].

Eisen wird im Duodenum absorbiert, die Absorptionsrate ist abhängig vom Eisenstatus, von der Ernährung, von der chemischen Form des verabreichten Eisens

und vom Lebensalter. Bei Frühgeborenen wurde, wenn zwischen den Mahlzeiten verabreicht, eine Absorptionsrate von 34-42 % gemessen. Wurde Eisen mit Muttermilch oder Formulanahrung verabreicht, wurden Absorptionsraten von 4,3-27 % gemessen [35].

1.5. Funktionen ausgewählter antioxidativer Enzyme

Trotz eines multifaktoriellen Erklärungsansatzes wird der oxidative Stress mit Bildung von toxischen Sauerstoffradikalen als ein bedeutender Faktor in der Entstehung der Frühgeborenenenerkrankungen BPD, ROP, intraventrikuläre Hämorrhagie (IVH) und nekrotisierende Enterokolitis (NEC) angesehen. Lebende Zellen sind exponiert gegenüber Oxidanzien, wie z.B. Sauerstoff, wobei besonders Proteine, DNA und ungesättigte Fettsäuren Angriffspunkte für oxidative Prozesse darstellen. Folgen sind DNA-Brüche, Mutationen, Zellschädigung und -tod. Bei sehr unreifen Frühgeborenen entsteht eine besonders empfindliche Situation dadurch, dass einerseits postnatal der Sauerstoffpartialdruck von 25 auf 95 mm Hg steigt und es dadurch zu einer Hyperoxie kommt. Andererseits haben sie unreife antioxidative Systeme [36]. Es konnte gezeigt werden, dass bereits intrauterine Komplikationen der Schwangerschaft zu einer Erhöhung der freien Radikale im Nabelschnurblut und zum häufigeren Auftreten der oben erwähnten Frühgeborenenenerkrankungen führen [37].

Die BPD ist multifaktoriell bedingt. Es wurde ein enger Zusammenhang zwischen der ablaufenden Entzündungsreaktion und dem oxidativen Stress gezeigt. Proinflammatorische Zytokine induzieren die Bildung von Sauerstoffradikalen durch aktivierte Makrophagen [38]. Unreife Oligodendrogliazellen reagieren empfindlich auf Sauerstoff und Sauerstoffradikale. Nach Asphyxie und Reoxygenierung kann eine Lipidperoxidation zu einer IVH führen. Ein signifikanter Zusammenhang wurde zwischen dem nicht-proteingebundenen freien Eisen im Nabelschnurblut und der IVH gezeigt [37]. Erhöhter retinaler Blutfluß, unreife Autoregulation, unreife Antioxidantien, Sauerstoffgabe und Bluttransfusion können zu einer ROP führen [33,34].

Bei der antioxidativen Abwehr spielen die Superoxiddismutase (CuZnSOD), die Glutathionperoxidase (GSH-Px) und die Katalase eine große Rolle. Die CuZnSOD

transformiert das Superoxid anion $O_2^{\cdot -}$ in H_2O_2 und O_2 , was dann durch die GSH-Px und die Katalase zu H_2O und O_2 abgebaut wird. Die SOD enthält Kupfer und Zink und die GSH-Px Selen. Diese Spurenelemente sind essentiell für die katalytische Aktivität dieser Enzyme.

Es konnten Kombinationen von Polymorphismen der CuZnSOD und der CAT gezeigt werden, die unterschiedliche Effekte auf die Entstehung typischer Frühgeborenen-erkrankungen, wie Atemnotsyndrom, BPD, IVH, und ROP haben. Protektive Haplo-typen können dabei das antioxidative Abwehrsystem stärken, während andere Kombinationen den antioxidativen Schutz verschlechtern [39].

1.6 Funktionen und Mangelerscheinungen der Mineralien Kalzium, Phosphat und Magnesium

Kalzium, Phosphat und Magnesium sind essentiell sowohl für den Aufbau der Knochenmatrix und der Zellmembranen als auch für die Funktion des Bindegewebes. Die Homöostase der Mineralien und die Knochenentwicklung erfordern eine adäquate Zufuhr von Protein, Energie, Kalzium (Ca), Phosphat (P), Magnesium (Mg) und Vitamin D. Kalzium und Phosphat bilden die hauptsächlichen anorganischen Bestandteile des Knochens, 99 % des Körper-Ca und 80 % des Körper-P finden sich im Apatitkristall. Die Knochenstruktur kann sich nur bilden, wenn Ca und P gleichzeitig und in einem ausgeglichenen Verhältnis mit einer molaren Ratio von 1,6 zugeführt werden. Magnesium ist ein wichtiges intrazelluläres Mineral, das zu 60 % des gesamten Körper-Mg in der Knochenmineralmatrix enthalten ist. 80 % der Mineralienspeicherung im Fetus erfolgen im 3. Trimenon. Das bedeutet, dass sehr unreife Frühgeborene mit einem erniedrigten Mineraliengehalt des Knochens geboren werden. Die Knochenmineralisierung kann durch zu niedrige postnatale Aufnahme an Mineralien, motorische Inaktivität, transienten Hypoparathyreoidismus und den Gebrauch von Diuretika und anderer diuretisch wirksamer Medikamente verschlechtert werden [31,40, Abbildung 8]. Kalzium wird zu 50-65 % und Phosphat zu 90 % aus der Muttermilch absorbiert [41].

Ein Mangel an Mineralien führt zu einer Osteopenia prematurorum, die durch verminderte Knochenmineralisierung bis hin zu Frakturen, Wachstumsstörung, Kraniotabes, dolichocephale Schädelkonfiguration und evt. Myopie charakterisiert ist [42, Abbildung 7].



Abb. 7 Klinisches Bild einer Osteopenia prematurorum; Quelle: Loui

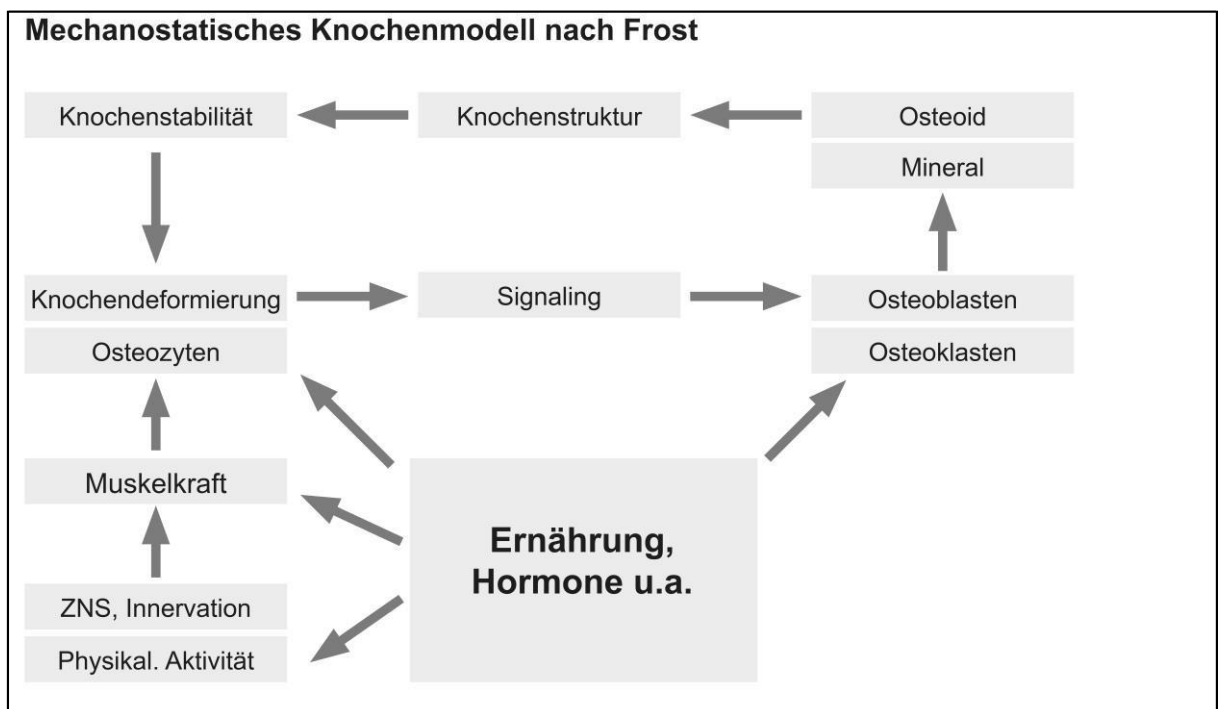


Abb. 8 Mechanostatisches Knochenmodell nach Frost [43]

1.7 Bedeutung von Protein in der Ernährung von Frühgeborenen

Die Empfehlungen zur Ernährung von sehr untergewichtigen Frühgeborenen mit Protein basieren unter anderem auf Messungen der Körperzusammensetzung, die an 169 Feten und Totgeborenen durchgeführt wurden [44]. Diese Daten von „Referenzfeten“ wurden durch Untersuchungen mittels Dualenergie-Röntgen-Absorptiometrie [45, 46] und Luftverdrängungs- Plethysmographie [47] bestätigt.

Rigo et al. veröffentlichten Referenzwerte gemessen mit der Dualenergie-Röntgen-Absorptiometrie [48]. Der Proteinzuwachs an fettfreier Masse steigt von 9 % mit 22 SSW auf 18 % zum errechneten Termin an [49]. Die Cochrane-Analyse von Kuschel im Jahre 2000 zeigte einen linearen Zusammenhang zwischen der Höhe der Proteinzufuhr über angereicherte Muttermilch und dem Wachstum während der stationären Behandlung von Frühgeborenen < 1500 g [50]. Mehrere Autoren randomisierter Studien [51-53] beschrieben eine höhere Wachstumsgeschwindigkeit unter einer erhöhten enteralen Proteinzufuhr. Eine frühe parenterale Ernährung unter anderem mit Aminosäuren verringerte dabei den maximalen Gewichtsverlust und die Dauer bis zum Wiedererreichen des Geburtsgewichtes, verbesserte das Körpergewicht, aber nicht Körperlänge und Kopfumfang mit korrigiert 36 SSW. Moyses et al. bewerten das als einen vorwiegenden Kurzzeiteffekt der parenteralen Ernährung auf das Wachstum Frühgeborener [54].

1.8 Zielsetzung der Arbeit

Das übergeordnete Ziel der hier vorgestellten Arbeiten bestand darin, Defizienzen in der Ernährung sehr untergewichtiger Frühgeborener zu identifizieren und nach Möglichkeiten zur Verbesserung der Ernährung in dieser Patientengruppe zu suchen. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Ansätze miteinander kombiniert:

1. Bilanzstudien von Zink, Selen, Kalzium, Phosphat und Magnesium sollten Aufnahme, Absorption und Retention dieser Stoffe bei Frühgeborenen quantifizieren (Publikationen 1, 2 und 4).
2. In einer kontrollierten Interventionsstudie wurde die Muttermilchanreicherung

durch Fortifier mit und ohne Spurenelemente bezüglich der Konzentration von Zink, Kupfer, Selen, Mangan, Jod und Eisen in Serum und Erythrozyten im Alter von 3 Tagen, 3 Wochen und 6 Wochen miteinander verglichen (Publikation 3).

3. Bei sehr untergewichtigen und kranken Frühgeborenen wurden unter Intensivpflegebedingungen longitudinal die Nahrungsaufnahme und das Wachstum (Körpergewicht, Körperlänge, Kopfumfang und Unterschenkellänge) während der ersten fünf Lebenswochen bestimmt und mit unterschiedlichen klinischen Zuständen (Beatmungsbedürftigkeit, Sauerstoffabhängigkeit, Dexamethasontherapie) in Beziehung gesetzt (Publikation 5).
4. Im Rahmen einer Europäischen Multizenterstudie sollten an einem großen Kollektiv von Frühgeborenen unter 1000 g Geburtsgewicht „Normwerte“ für Zink, Kupfer, Eisen und Selen in Plasma und Erythrozyten sowie der Aktivitäten der antioxidativen Enzyme Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase und Katalase in den Erythrozyten im Alter von 3 Tagen erstellt werden. Ihr longitudinaler Verlauf bis zum 68. Lebensstag und ihr Zusammenhang zum Auftreten typischer Frühgeborenenenerkrankungen (BPD, ROP, IVH, NEC) wurden analysiert (Publikation 6).
5. Nach Erhöhung der Proteinzufuhr auf 4,3 g/kg/Tag mittels eines enteralen Protein-Supplementes sollte bei sehr untergewichtigen Frühgeborenen die Entwicklung von Körpergewicht, Körperlänge und Kopfumfang während der ersten 35 Lebens-tage analysiert werden (Publikation 7).

Die Fragestellungen werden bei den Publikationen im Einzelnen detailliert dargestellt.

2. Verzeichnis der zur kumulativen Habilitation zusammengefassten Publikationen

Die hier vorgestellte kumulative Habilitationsschrift fasst in chronologischer Reihenfolge sieben Ernährungsstudien zusammen, die im Zeitraum 1998-2010 in der Klinik für Neonatologie der Charité bei sehr unreifen Frühgeborenen durchgeführt wurden. Die Studien waren jeweils von der Ethik-Kommission der Charité genehmigt, zur Teilnahme wurde bei jedem Kind die schriftliche Einwilligung der Eltern eingeholt.

1. **Loui A**, Raab A, Obladen M, Brätter P. Nutritional zinc balance in extremely low birthweight infants. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2001; 32: 438-42.
2. **Loui A**, Raab A, Obladen M, Brätter P. Calcium, phosphorus and magnesium balance: FM 85 fortification of human milk does not meet mineral needs of extremely low birthweight infants. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 228-235.
3. **Loui A**, Raab A, Wagner M, Weigel H, Grüters-Kieslich A, Brätter P, Obladen M. Nutrition of very low-birth-weight infants with human milk fortified with and without trace elements: A randomized controlled trial. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2004; 39: 346-353.
4. **Loui A**, Raab A, Brätter P, Obladen M, de Brätter VN. Selenium status in term and preterm infants during the first months of life. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 349-355.
5. **Loui A**, Tsalikaki E, Walch E, Maier K, Obladen M. Growth in infants < 1500 g birthweight during the first 5 weeks. *Early Hum Dev* 2008, 84: 645-650.
6. **Loui A**, Raab A, Maier RF, Brätter P, Obladen M. Trace elements and antioxidant enzymes in infants below 1000 g. *J Trace Elem Med Biol* 2010; 24: 111-118.
7. **Loui A**, Bühner C. Growth of very low birth weight infants after increased amino acid and protein administration. *J Perinatal Med* 2013; 41: 735-741.

3. Fragestellungen und Ergebnisse in den vorgestellten Originalarbeiten zum Thema

3.1 Zinkbilanzstudien bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1000 g

Hintergrund: Zink ist bedeutsam für Stoffwechsel, Zellwachstum, Immunabwehr und Abwehr von Sauerstoffradikalen. Extrem untergewichtige (< 1000 g) Frühgeborene haben einen höheren Bedarf für die Ernährung, aber es stehen wenige Informationen über Zink zur Verfügung. Wir führten Bilanzstudien bei zehn Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von 500-999 g durch, die mit angereicherter Muttermilch ernährt wurden.

Methoden: Es wurden Stuhl, Urin und gepoolte Muttermilchproben über 72 Stunden sowie eine Blutprobe im Alter von 7 und 12 Lebenswochen gesammelt. Die Zink-Konzentrationen wurden mit der Induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS), der Induktiv gekoppelten Plasma-Atom-Emissions-Spektrophotometrie (ICP-AES) und der Instrumentellen Neutronen-Aktivierungsanalyse (INAA) in allen Proben gemessen.

Ergebnisse: Die mittlere (\pm SD) Aufnahme von Zink über die Muttermilch betrug 379 (\pm 373) $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{Tag}$ während beider Bilanzen. Die Urinausscheidung war mit 7 Lebenswochen hoch, fiel bis 12 Lebenswochen auf die Hälfte ab und war negativ mit der Gewichtszunahme korreliert ($p < 0,01$). Die mittlere Absorption war leicht positiv mit 7 Lebenswochen, aber Null bzw. negativ bei den meisten Frühgeborenen mit 12 Lebenswochen. Die Zink-Retention war zu beiden Bilanzzeitpunkten bei allen Frühgeborenen negativ, außer bei einem Frühgeborenen während der 2. Bilanzperiode.

Schlussfolgerungen: Zinkbilanzen sind bei extrem untergewichtigen Frühgeborenen deutlich variabel und zumeist negativ. Kontrollierte Studien sind notwendig, um die Notwendigkeit, den Nutzen und die Risiken der Supplementierung von Zink zu untersuchen. [55]

Ausgewählte Ergebnisse

Die Frühgeborenen (Gestationsalter $25,9 \pm 0,6$ Wochen, Geburtsgewicht 845 ± 76 g) wurden mit Muttermilch oder Frauenmilch ernährt, die vom Lebenstag 20 an mit 5 % FM-85 angereichert war (Zink-freier, früher hergestellter Fortifier der Fa. Nestlé Nutrition GmbH). Während der ersten Wochen erhielten die Kinder eine teilparenterale Ernährung, die mit Spurenelementen angereichert war (Peditrace, Pharmacia & Upjohn). Außerdem erhielten sie eine enterale Supplementierung mit Eisen, Kalzium und Phosphat.

Wir fanden eine niedrige mittlere Zinkkonzentration in der Muttermilch (mit 7 Wochen: 2,48 mg/l, mit 12 Wochen: 2,42 mg/l). Aufnahme, Absorption und Retention von Zink variierten bei den 10 Kindern erheblich (Tabelle 3), die Retention war mit einer Ausnahme bei allen Patienten negativ.

Tab. 3 Zinkbilanzstudien bei 10 extrem untergewichtigen Frühgeborenen < 1000 g

Zinkbilanz im Alter von 7 Wochen

Pat. Nr.	Aufnahme (µg/kg/Tag)	Absorption (µg/kg/Tag)	Retention (µg/kg/Tag)
1	160	- 51	- 287
2	140	- 183	- 440
3	321	36	27
4	409	66	- 40
5	398	72	- 761
6	417	79	- 161
7	433	- 37	- 768
8	395	56	- 429
9	844	12	- 333
10	239	53	- 10
M	376	8	- 320
SD	187	78	272

Zinkbilanz im Alter von 12 Wochen

Pat. Nr.	Aufnahme (µg/kg/Tag)	Absorption (µg/kg/Tag)	Retention (µg/kg/Tag)
1	219	9	- 120
2	2040	1614	1515
3	217	25	- 121
4	258	24	- 572
5	260	- 344	- 561
6	419	- 636	- 813
7	100	- 18	- 97
8	90	- 211	- 646
9	174	- 426	- 576
10	131	63	- 39
M	391	10	- 203
SD	557	579	631

Absorption: kalkuliert aus Aufnahme minus Ausscheidung über den Stuhl;
Retention: kalkuliert aus Aufnahme minus der Ausscheidung über Stuhl und Urin
M, Mittelwert; SD, Standardabweichung

Loui A, Raab A, Obladen M, Brätter P. Nutritional zinc balance in extremely low birthweight infants. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2001; 32: 438- 42

3.2 Kalzium-, Phosphat- und Magnesium-Bilanz bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1000 g: FM-85 (alte Rezeptur) deckt nicht den Mineralbedarf

Hintergrund: Extrem untergewichtige (< 1000 g) Frühgeborene wachsen schnell und ihre Bedürfnisse für die Ernährung sind für Kalzium, Phosphat und Magnesium hoch.

Methoden: Prospektive Mineralien-Bilanzstudie, durchgeführt in der Klinik für Neonatologie der Charité, Universitätsmedizin Berlin und der Abteilung für Molekulare Spurenelementforschung, Hahn-Meitner-Institut Berlin. 19 Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von unter 1000 g wurden in der Klinik behandelt, 9 Frühgeborene schieden aus der Studie aus und 10 Frühgeborene (Geburtsgewicht 730-995 g), die mit angereicherter Muttermilch (Fortifier FM 85, frühere Rezeptur, Fa. Nestlé Nutrition GmbH) ernährt wurden, beendeten die Studie. Wir sammelten Stuhl und Urin der Frühgeborenen über 72 Stunden, eine gepoolte Muttermilchprobe und eine Blutprobe mit 7 und 12 Lebenswochen. Die Mineralien wurden mit der Induktiv gekoppelten Plasma- Atom-Emissions-Spektrophotometrie (ICP-AES) gemessen.

Ergebnisse: Die mittleren (\pm SD) Konzentrationen der Mineralien in der Muttermilch waren über beide Bilanzen niedrig: Kalzium 9,88 (\pm 3,58) mmol/l, Phosphat 7,02 (\pm 3,81) mmol/l, Magnesium 1,59 (\pm 0,54) mmol/l und dabei besonders niedrig mit 12 Lebenswochen. Die Kalziumretention war niedrig oder negativ, während die Phosphat- und Magnesiumbilanzen positiv waren. Coffein und Diuretika erhöhten die Ausscheidung der Mineralien. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum war zumeist < 800 U/l, und 162 U/l bei einem Frühgeborenen mit einem Zinkmangel mit 12 Lebenswochen. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase korrelierte mit der Absorption und Retention von Phosphat und mit dem Längenwachstum.

Schlussfolgerungen: Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht < 1000 g haben einen höheren Bedarf in der Ernährung für Kalzium, Phosphat und Magnesium, der mit den gegenwärtig in Europa verwendeten Muttermilch-Fortifier nicht gedeckt wird. Kontrollierte Studien sind notwendig, um den Bedarf, die Dauer und die Risiken der Supplementierung der Mineralien zu untersuchen. [56]

Ausgewählte Ergebnisse:

Die Frühgeborenen (Gestationsalter $25,9 \pm 0,6$ Wochen, Geburtsgewicht 845 ± 76 g) wurden mit Muttermilch oder Frauenmilch ernährt, die vom Lebenstag 20 an mit 5 % FM-85 angereichert war (Zink-freier, früher hergestellter Fortifier der Fa. Nestlé Nutrition GmbH). Während der ersten drei Wochen erhielten die Kinder eine teilparenterale Ernährung, die mit Spurenelementen angereichert war (Peditrace, Pharmacia & Upjohn). Außerdem erhielten sie eine enterale Supplementierung mit 0,1 mmol/kg Eisen, 3 mmol/kg Kalzium und 2,15 mmol/kg Phosphat.

In der angereicherten Muttermilch fanden wir eine niedrige mittlere Konzentration von Kalzium (mit 7 Wochen 11,1 mmol/l, mit 12 Wochen 8,7 mmol/l), von Phosphat (mit 7 Wochen 8,5 mmol/l, mit 12 Wochen 5,5 mmol/l) und von Magnesium (mit 7 Wochen 1,8 mmol/l, mit 12 Wochen 1,4 mmol/l).

Die Kalzium-Aufnahme war insbesondere während der zweiten Bilanz bemerkenswert niedrig (Tabelle 4). Die Kalzium-Retention war mit 7 Wochen minimal, mit 12 Wochen in den meisten Fällen sogar negativ.

Im Gegensatz zur Kalzium-Bilanz war die Retention von Phosphat in den meisten Fällen positiv, auch im Alter von 12 Wochen (Tabelle 5).

Die Magnesium-Retention war bei den meisten Kindern minimal positiv oder sogar negativ (Tabelle 6). Bei Ernährung mit Muttermilch wird trotz Supplementierung mit FM 85 bei Frühgeborenen unter 1000 g der Bedarf an Kalzium, Phosphat und Magnesium nicht gedeckt.

Tab. 4 Kalziumbilanzstudien bei 10 extrem untergewichtigen Frühgeborenen (< 1000 g)

Kalziumbilanz im Alter von 7 Wochen

Pat.-Nr.	Aufnahme (mmol/kg/Tag)	Absorption (mmol/kg/Tag)	Retention (mmol/kg/Tag)
1	3,50	1,43	1,26
2	2,40	- 0,01	- 0,21
3	3,09	0,00	- 0,24
4	1,50	- 1,19	- 1,26
5	1,49	- 1,73	- 1,86
6	3,42	1,22	0,98
7	3,91	0,52	0,37
8	3,91	1,31	1,04
9	1,98	0,70	0,51
10	2,48	1,67	1,15
M	2,77	0,39	0,17
SD	0,88	1,08	1,01

Kalziumbilanz im Alter von 12 Wochen

Pat.-Nr.	Aufnahme (mmol/kg/Tag)	Absorption (mmol/kg/Tag)	Retention (mmol/kg/Tag)
1	2,36	0,85	0,56
2	1,45	- 1,27	- 1,43
3	2,96	- 0,44	- 0,59
4	1,87	- 0,13	- 0,20
5	1,88	- 0,10	- 0,17
6	1,64	- 0,72	- 1,06
7	2,68	- 0,30	- 0,44
8	2,02	0,03	- 0,12
9	2,06	- 0,14	- 0,30
10	1,91	0,43	0,07
M	2,08	- 0,18	- 0,37
SD	0,44	0,55	0,53

Absorption: kalkuliert aus Aufnahme minus Ausscheidung über den Stuhl;

Retention: kalkuliert aus Aufnahme minus der Ausscheidung über Stuhl und Urin;

M, Mittelwert; SD, Standardabweichung

Tab. 5 Phosphat-Bilanzstudien bei 10 extrem untergewichtigen Frühgeborenen (< 1000 g)

Phosphatbilanz im Alter von 7 Wochen

Pat.-Nr.	Aufnahme (mmol/kg/Tag)	Absorption (mmol/kg/Tag)	Retention (mmol/kg/Tag)
1	2,44	2,28	2,03
2	1,47	1,28	1,15
3	2,00	1,74	1,62
4	1,21	0,45	0,39
5	1,20	0,34	0,27
6	4,08	3,36	3,01
7	3,91	3,11	2,25
8	3,90	3,11	2,78
9	1,82	1,30	1,13
10	1,86	1,67	1,61
M	2,39	1,86	1,62
SD	1,09	1,03	0,88

Phosphatbilanz im Alter von 12 Wochen

Pat.-Nr.	Aufnahme (mmol/kg/Tag)	Absorption (mmol/kg/Tag)	Retention (mmol/kg/Tag)
1	1,47	1,11	1,07
2	1,32	0,86	0,63
3	2,72	1,99	1,51
4	0,95	0,31	0,13
5	0,96	0,27	0,14
6	1,45	- 0,03	- 0,27
7	2,00	1,13	0,77
8	1,82	0,89	0,51
9	1,93	1,09	0,90
10	1,49	0,73	0,59
M	1,61	0,83	0,60
SD	0,50	0,54	0,49

Absorption: kalkuliert aus Aufnahme minus Ausscheidung über den Stuhl;
 Retention: kalkuliert aus Aufnahme minus der Ausscheidung über Stuhl und Urin;
 M, Mittelwert; SD, Standardabweichung

Tab. 6 Magnesium-Bilanzstudien bei 10 extrem untergewichtigen Frühgeborenen (< 1000 g)

Magnesiumbilanz im Alter von 7 Wochen

Pat.-Nr.	Aufnahme (mmol/kg/Tag)	Absorption (mmol/kg/Tag)	Retention (mmol/kg/Tag)
1	0,26	0,06	0,00
2	0,18	0,05	- 0,01
3	0,19	0,04	0,00
4	0,15	0,00	- 0,03
5	0,15	- 0,05	- 0,09
6	0,46	0,36	0,26
7	0,48	0,33	0,28
8	0,43	0,34	0,21
9	0,19	0,13	0,08
10	0,24	0,21	- 0,01
M	0,27	0,15	0,07
SD	0,12	0,15	0,13

Magnesiumbilanz im Alter von 12 Wochen

Pat.-Nr.	Aufnahme (mmol/kg/Tag)	Absorption (mmol/kg/Tag)	Retention (mmol/kg/Tag)
1	0,11	0,02	- 0,03
2	0,16	0,03	- 0,01
3	0,25	0,06	0,02
4	0,19	0,09	0,04
5	0,19	0,06	0,02
6	0,19	0,09	- 0,08
7	0,24	0,07	0,02
8	0,22	0,11	- 0,01
9	0,25	0,14	0,06
10	0,24	0,18	0,04
M	0,20	0,09	0,01
SD	0,04	0,05	0,04

Absorption: kalkuliert aus Aufnahme minus Ausscheidung über den Stuhl;

Retention: kalkuliert aus Aufnahme minus der Ausscheidung über Stuhl und Urin;

M, Mittelwert; SD, Standardabweichung

Loui A, Raab A, Obladen M, Brätter P. Calcium, phosphorus and magnesium balance: FM 85 fortification of human milk does not meet mineral needs of extremely low birthweight infants. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 228- 235
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601305>

3.3 Muttermilch-Ernährung von sehr untergewichtigen Frühgeborenen (< 1500 g) mit oder ohne zusätzliche Spurenelemente: Eine randomisierte Studie.

Hintergrund: Sehr untergewichtige (<1500 g) Frühgeborene haben einen hohen Bedarf an Nährstoffen. Infolge des rapiden Wachstums, der niedrigen Körperspeicher und des zu niedrigen Gehaltes an Mineralien und Spurenelementen in der Muttermilch können sich diesbezüglich Mangelerscheinungen entwickeln. Wir stellten die Hypothese auf, dass eine zusätzliche Anreicherung der Muttermilch mit Mineralien und Spurenelementen Mangelerscheinungen vermeiden kann.

Methoden: Prospektive, randomisierte Studie, um die Konzentrationen von Mineralien, Spurenelementen und Schilddrüsenhormonen sowie das Wachstum zu untersuchen. Die Frühgeborenen wurden mit Muttermilch ernährt, die mit verschiedenen Mengen an Kalzium, Phosphat, Protein sowie mit (Muttermilch-Fortifier BMF, Fa. Milupa GmbH) oder ohne (Muttermilch-Fortifier FM 85, frühere Rezeptur, Fa. Nestlé Nutrition GmbH) Spurenelemente angereichert wurde. Durch BMF wurden je 100 ml Muttermilch mit 300 µg Zink, 30 µg Kupfer, 6 µg Mangan und 11 µg Jod angereichert. 62 Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von 1000-1499 g wurden randomisiert (FM 85 n=34; BMF n=28). Mineralien und Spurenelemente in Serum, Erythrozyten und Muttermilch sowie Aktivität der alkalischen Phosphatase, TSH, T₄ und FT₄ im Serum wurden bis zum 5. Lebenstag sowie mit 3 und 6 Lebenswochen gemessen. Daten des klinischen Verlaufes und des Wachstums wurden erhoben.

Ergebnisse: Die Aufnahme von Zink, Kupfer, Mangan, Kalzium, Phosphat und Magnesium war in der BMF-Gruppe höher ($p < 0,001$). Eine Serum-Zink-Konzentration unter 0,49 mg/l, die in der Literatur als Zinkmangel definiert wird, trat in 12 % der Frühgeborenen in der FM 85-Gruppe und in 7 % der Frühgeborenen der BMF-Gruppe mit 6 Lebenswochen auf (nicht signifikant verschieden) (Tabelle 7). Die mittlere Aktivität der alkalischen Phosphatase lag bei 436/379 U/l in der FM 85-/BMF-Gruppe ($p < 0,01$). Die FM 85-Gruppe zeigte eine höhere Gewichtszunahme ($p < 0,05$), möglicherweise bedingt durch die höhere Aufnahme von Kalorien ($p < 0,01$) und Protein ($p < 0,05$) mit drei Lebenswochen.

Schlussfolgerungen: Ein Zinkmangel trat selten auf. Die erhöhte Aufnahme von Kalzium und Phosphat war mit einer niedrigeren Aktivität der alkalischen Phosphatase verbunden. Die erhöhte Aufnahme von Zink beeinflusste aber nicht die Serum-Zink-Konzentration. [57]

Ausgewählte Ergebnisse:

Die Frühgeborenen (mittleres Gestationsalter 29+6 Wochen, Geburtsgewicht 1276 g) wurden von zweiten Lebenstag an mit Muttermilch bzw. Frauenmilch ernährt. Die Anreicherung der Muttermilch mit einem Fortifier wurde begonnen, wenn eine enterale Zufuhr von 100 ml pro Tag erreicht war; dies war in der FM-85 Gruppe im Mittel mit 7,5 Tagen, in der BMF-Gruppe mit 7,0 Tagen der Fall.

Die mit 3-5 Lebenstagen sowie 3 und 6 Lebenswochen gemessenen Konzentrationen an Spurenelementen und Mineralien im Serum und / oder Erythrozyten sind in der Tabelle 7 dargestellt (Tabelle 7).

Tab. 7 Konzentrationen ausgewählter Mineralien und Spurenelemente in Serum und/oder Erythrozyten sehr untergewichtiger Frühgeborener

	Baseline		Tag 3-5		Nach 3 Wochen		Nach 6 Wochen	
	FM 85	BMF	FM 85	BMF	FM 85	BMF	FM 85	BMF
Zn Serum (mg/l)	1,1 (1,0/1,3)	1,2 (1,0/1,4)	0,8 (0,8/0,9)	0,9 (0,8/1,0)	0,7 (0,6/0,9)	0,7 (0,6/0,8)		
Zn Ery (µg/g Hb)	8,3 (6,6/10,6)	7,8 (5,8/10,0)	9,1 (7,3/13,5)	8,3 (6,5/12,2)	13,2 (8,9/19,7)	11,7 (9,1/14,6)		
Cu Serum (mg/l)	0,4 (0,3/0,4)	0,4 (0,4/0,6)	0,4 (0,4/0,5)	0,5 (0,4/0,6)	0,4 (0,3/0,5)	0,5 (0,4/0,7) [#]		
Cu Ery (mg/g Hb)	2,6 (2,1/3,2)	2,7 (2,2/3,3)	2,5 (2,1/2,9)	2,4 (1,9/3,4)	2,6 (2,1/3,8)	2,9 (2,1/3,6)		
Se Serum (µg/l)	29,5 (23,6/34,2)	33,5 (26,1/40,9)	20,2 (16,1/24,6)	23,2 (19,2/28,5)	15,0 (10,4/19,2)	18,7 (13,1/24,7) [*]		
Se Ery (µg/g Hb)	0,4 (0,3/0,5)	0,5 (0,3/0,5)	0,3 (0,3/0,5)	0,4 (0,3/0,6)	0,3 (0,2/0,4)	0,4 (0,3/0,6)		
Ca Serum (mg/l)	87 (84/96)	93 (86/100)	103 (96/106)	103 (97/108)	100 (97/104)	104 (98/108)		
P Serum (mg/l)	111 (102/120)	119 (104/132)	134 (120/148)	153 (138/161)	135 (124/145)	141 (126/161)		
Mg Serum (mg/l)	24 (21/28)	23 (21/26)	18 (17/20)	20 (19/21)	19 (17/20)	20 (20/22) [#]		

Daten sind Mediane (25./75. Quartile); Ery, Erythrozyt; * p < 0,05; # p < 0,01
FM 85, Fortifier Fa. Nestlé Nutrition GmbH; BMF, Fortifier Fa. Milupa GmbH

Bezüglich des Wachstums fanden sich zwischen der FM-85 Gruppe und der BMF-Gruppe nur sehr geringe Unterschiede (Tabelle 8). Signifikant waren eine schnellere Gewichtszunahme in der FM 85-Gruppe und ein rascheres Kopfwachstum in der BMF-Gruppe. Die Dauer bis zum Wiedererreichen des Geburtsgewichtes war nicht signifikant unterschiedlich.

Tab. 8 Wachstum der Frühgeborenen bis zur 6. Lebenswoche

Zunahme von	FM 85 Gruppe (n= 34)	BMF-Gruppe (n= 38)
Gewicht (g/kg/Tag)*	17,3 (15,2/18,9)	16,0 (13,3/17,3) [#]
Körperlänge (cm/Woche)	0,67 (0,50/1,00)	0,63 (0,40/0,83)
Unterschenkellänge (mm/Tag)	0,28 (0,25/0,33)	0,26 (0,23/0,29)
Kopfumfang (cm/Woche)	0,59 (0,42/0,70)	0,63 (0,5/0,67) [#]
Geburtsgewicht wieder erreicht (Tag)	14 (12/17)	17 (13/19)

* nach Wiedererreichen des Geburtsgewichtes; Daten als Mediane (25./75. Quartile)

[#] p < 0,05 FM 85, Fortifier Fa. Nestlé Nutrition GmbH; BMF, Fortifier Fa. Milupa GmbH

Loui A, Raab A, Wagner M, Weigel H, Grüters-Kieslich A, Brätter P, Obladen M.
Nutrition of very low-birth-weight infants with human milk fortified with and without
trace elements: A randomized controlled trial. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2004; 39:
346- 353

3.4 Selenstatus bei Reifgeborenen und Frühgeborenen in den ersten Lebensmonaten

Hintergrund: Wir stellten die Hypothese auf, dass sehr untergewichtige Frühgeborene bei Geburt im Vergleich zu Reifgeborenen erniedrigte Selenkonzentrationen im Serum und in den Erythrozyten haben, die unter der aktuellen Ernährung weiter abfallen und verbunden sind mit dem gehäuftten Auftreten einer bronchopulmonalen Dysplasie und einer Sepsis.

Methoden: Wir untersuchten die Selenaufnahme, die Konzentrationen von Selen im Serum und den Erythrozyten, die Aktivität der Glutathionperoxidase (GSH-Px) bei Früh- und Reifgeborenen von der Geburt bis zu einem Alter von 16 Lebenswochen. Die Daten wurden als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. 72 Frühgeborene in zwei Gruppen, geboren in Berlin, mittleres Gestationsalter 26+0/30+0 SSW, mittleres Geburtsgewicht 845/1270 g mit einer niedrigen Selenaufnahme ($2,2\pm 0,8/2,5\pm 1,2$ $\mu\text{g/kg/Tag}$) und 55 Reifgeborene, mittleres Gestationsalter 39+1 SSW, mittleres Geburtsgewicht 3160 g, geboren in San Felipe, Venezuela, mit einer hohen Selenaufnahme (29 ± 8 $\mu\text{g/kg/Tag}$) wurden eingeschlossen.

Ergebnisse: Eine Bilanzstudie bei 10 Frühgeborenen (< 1000 g Geburtsgewicht) zeigte, dass Selen aus Muttermilch gut absorbiert wird (77 ± 9 %). Die Serumkonzentrationen waren bei Reifgeborenen ($142,0\pm 40,0/120,0\pm 30,0$ $\mu\text{g/l}$) höher als bei Frühgeborenen ($17,8\pm 8,1/19,9\pm 2,2$ $\mu\text{g/l}$) mit 4/7 Lebenswochen. Die Konzentrationen von Selen im Serum und in den Erythrozyten sanken bei allen Säuglingen mit zunehmendem Alter ab. Niedrige Konzentrationen bei Frühgeborenen korrelierten nicht mit dem Auftreten einer bronchopulmonalen Dysplasie und einer Sepsis. Die Aktivität der GSH-Px in den Erythrozyten blieb bei allen Säuglingen bis zum Alter von 6 Lebenswochen stabil und korrelierte nicht mit der Konzentration von Selen in den Erythrozyten.

Schlussfolgerungen: Die Selenkonzentration im Serum sinkt während der ersten Lebenswochen ab und ist von der Selenaufnahme abhängig. Die Aktivität der GSH-Px ist kein brauchbarer Parameter für den Selenstatus bei Säuglingen in den ersten

16 Lebenswochen. [58]

Ausgewählte Ergebnisse:

Die Frühgeborenen erhielten wenigstens 7 Tage vor Beginn der 1. Bilanzstudie mit 7 Lebenswochen keine parenterale Zufuhr von Aminosäuren und/ oder Fetten zusammen mit Spurenelementen, sodass während dieser Zeit keine parenterale Selenzufuhr erfolgte. Die Selenkonzentration in der (Berliner) Muttermilch betrug mit 3 Wochen $18,2 \pm 6,6 \mu\text{g/l}$, mit 7 Wochen $10,8 \pm 1,3 \mu\text{g/l}$ und mit 12 Wochen $16,1 \pm 9,8 \mu\text{g/l}$. Die Bilanzstudie (Tabelle 9) zeigt, dass Selen leicht aus der Muttermilch aufgenommen wird.

Tab. 9 Selen-Bilanzstudien bei 10 extrem untergewichtigen Frühgeborenen (< 1000 g)

	Bilanzstudie 1 (7 Lebenswochen)	Bilanzstudie 2 (12 Lebenswochen)
Aufnahme ($\mu\text{g/kg/Tag}$)	$1,92 \pm 0,32$	$2,51 \pm 1,27$
Absorption ($\mu\text{g/kg/Tag}$)	$1,73 \pm 0,25$	$2,31 \pm 1,27$
Absorption (% Aufnahme)	76 ± 9	77 ± 10
Retention ($\mu\text{g/kg/Tag}$)	$1,36 \pm 0,23$	$1,97 \pm 1,26$
Retention (% Aufnahme)	56 ± 11	60 ± 15

Absorption: kalkuliert aus Aufnahme minus Ausscheidung über den Stuhl;
 Retention: kalkuliert aus Aufnahme minus der Ausscheidung über Stuhl und Urin
 Daten sind Mittelwerte \pm SD

Zwischen der Serum-Selen-Konzentration und der Aktivität der Glutathionperoxidase fand sich keine signifikante Korrelation, auch war die Selenkonzentration im Serum bei Kindern mit und ohne bronchopulmonaler Dysplasie oder Sepsis nicht unterschiedlich.

Loui A, Raab A, Brätter P, Obladen M, de Brääter VN. Selenium status in term and preterm infants during the first months of life. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 349- 355
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602715>

3.5 Wachstum von sehr untergewichtigen Frühgeborenen während der ersten fünf Lebenswochen

Hintergrund: Das Wachstum von sehr untergewichtigen (< 1500 g) Frühgeborenen wird benutzt, um ihre Ernährung zu überwachen und zu steuern. Dabei wird angestrebt, die intrauterine Wachstumsgeschwindigkeit von 15 g/kg/Tag zu erreichen. Wir stellten die Hypothese auf, dass neben der Ernährung auch der Schweregrad der Erkrankungen Einfluß auf eine auftretende Wachstumsstörung hat.

Methoden: Prospektive Longitudinalstudie von 45 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von < 1500 g, die auf der neonatologischen Intensivstation behandelt wurden. Die Notwendigkeit der künstlichen Beatmung wurde zur Bewertung des Schweregrades der Erkrankung der Frühgeborenen verwendet. Nahrungsaufnahme, Körpergewicht, Körperlänge, Kopfumfang und Unterschenkel­länge wurden während der ersten fünf Lebenswochen erfasst.

Ergebnisse: Das Geburtsgewicht und das Gestationsalter waren bei den 22 beatmeten Frühgeborenen niedriger als bei den 23 nicht beatmeten Frühgeborenen ($p < 0,01$). Die mediane tägliche Aufnahme bis zum 35. Lebenstag betrug: 3,2/2,8 g/kg Protein (nicht signifikant), 108/112 kcal/kg Kalorien (nicht signifikant) und 175/160 ml/kg Volumen ($p < 0,01$) für die beatmeten/ nicht beatmeten Frühgeborenen. Eine bronchopulmonale Dysplasie trat bei 12 Frühgeborenen auf, fünf von ihnen wurden mit Dexamethason behandelt. Künstliche Beatmung ($p < 0,01$) und Dexamethason-Therapie ($p < 0,05$) waren unabhängige Prädiktoren der Gewichtszunahme. Die mediane Gewichtszunahme (8,2 vs. 9,7 g/kg/Tag), das mediane Kopfumfangwachstum (0,45 vs. 0,60 cm/Woche) und die mediane Zunahme der Unterschenkel­länge (0,28 vs. 0,35 mm/Tag) waren niedriger ($p < 0,05$) bei den beatmeten versus den nicht beatmeten Frühgeborenen. Die Korrelationen der Zunahme der Unterschenkel­länge mit dem Körperlängenwachstum ($r=0,31$, $p < 0,05$) und dem Kopfumfangwachstum ($r=0,42$, $p < 0,01$) waren niedrig. Dexamethason führte zu einem Stopp des Wachstums: die mediane Zunahme der Unterschenkel­länge betrug 0,21 und 0,31 mm/Tag bei den beatmeten Frühgeborenen mit und ohne Dexamethason ($p < 0,05$).

Schlussfolgerungen: Bei sehr untergewichtigen Frühgeborenen, werden mit der aktuell durchgeführten Ernährung die fetalen Wachstumsraten nicht erreicht. Zusätzlich zur inadäquaten Ernährung, führen Faktoren, die direkt mit der Erkrankung und der Therapie zusammenhängen, zu einer postnatalen Wachstumsstörung. [59]

Ausgewählte Ergebnisse:

Die Frühgeborenen (beatmete Kinder: medianes Gestationsalter 26,5 Wochen, medianes Geburtsgewicht 848 g; nicht-beatmete Kinder: medianes Gestationsalter 30,0 Wochen, medianes Geburtsgewicht 1310 g) wurden mit Muttermilch oder Frauenmilch ernährt, die mit dem Fortifier FM 85 5 % (Fortifier der Fa. Nestlé Nutrition GmbH, alte Rezeptur) angereichert war. Solange die Kinder nicht wenigstens 130 ml/kg/Tag an enteraler Zufuhr bekamen, erhielten sie eine parenterale Zufuhr von Aminosäuren, Fetten und Spurenelementen. Es wurde eine Energiezufuhr von 105 bis 135 kcal/kg/Tag und eine Proteinzufuhr von 3,0 bis 4,0 g/kg/Tag im Alter von 10 Tagen angestrebt. Gestationsalter, künstliche Beatmung, Sauerstofftherapie und Dexamethason-Medikation korrelierten mit der Gewichtszunahme der Kinder während des Beobachtungszeitraumes. Dabei erwiesen sich in der linearen Regressionsanalyse dieser Faktoren (Tabelle 10) die Dauer der künstlichen Beatmung und die Dexamethason-Medikation als die einzigen unabhängigen Prädiktoren einer beeinträchtigten Gewichtszunahme vom 7. bis zum 35. Lebenstag.

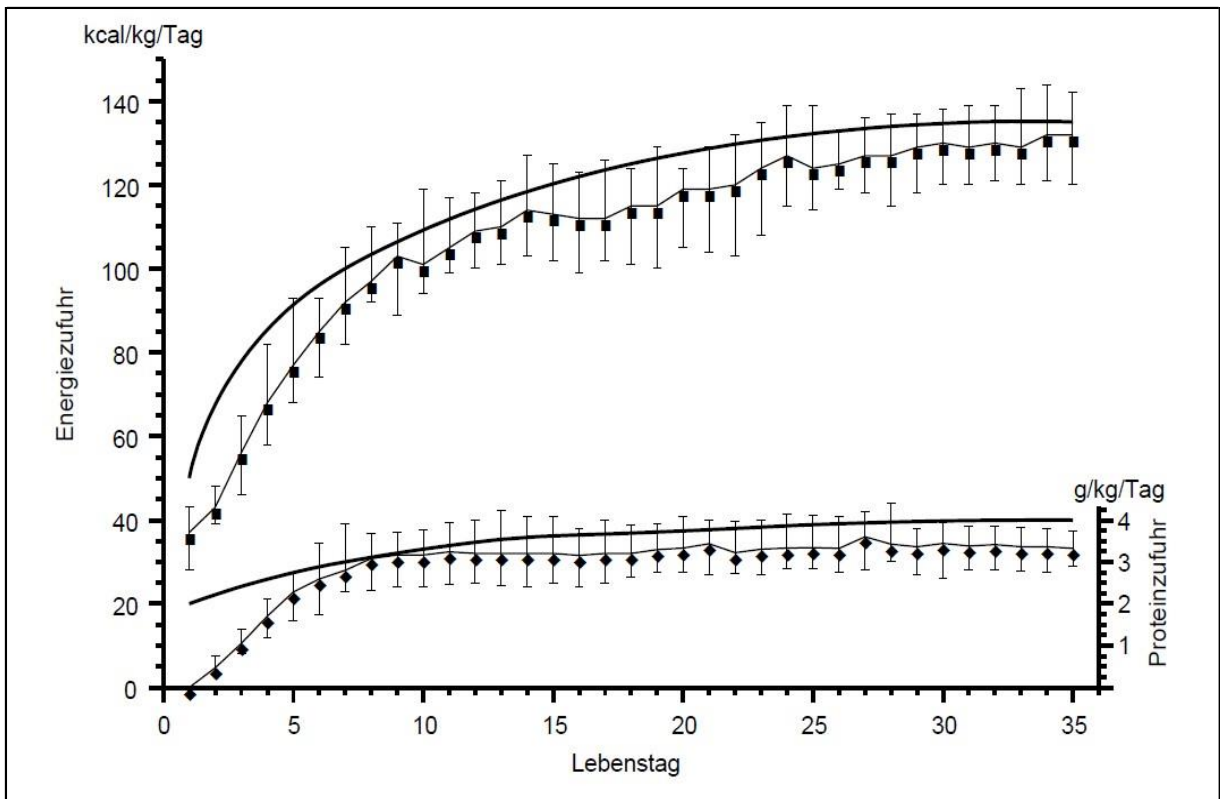
Tab. 10 Lineare Regressionsanalyse zum Einfluß verschiedener klinischer Faktoren auf die Gewichtszunahme in den ersten fünf Lebenswochen

	Regressions- koeffizient (B)	Koeffizient β	95% CI für B	P
Gestationsalter (Wochen)	0,101	0,074	- 1,21 bis 24,95	0,644
O ₂ - Therapie (Tage)	0,001	0,007	- 0,34 bis 0,54	0,966
Beatmung (Tage)	- 0,188	- 0,460	- 0,33 bis – 0,05	0,009
Dexamethason- Therapie (Tage)	- 0,259	- 0,294	- 0,50 bis – 0,024	0,032

Abhängige Variable: Körpergewicht Tag 7-35/Geburtsgewicht + Körpergewicht Tag 35/2
 $R^2 = 0,485$
 CI, Konfidenzintervall; β , standardisierter Koeffizient

Abbildung 9 zeigt, wie stark in der klinischen Realität bei schwerkranken Frühgeborenen die tatsächlich zugeführten Energie- bzw. Proteinmengen den vom Protokoll her vorgesehenen Bedarf unterschritten.

Abb. 9 Tägliche Zufuhr von Energie und Protein (Mediane, Quartile) bei 45 sehr untergewichtigen Frühgeborenen



Gefüllte Quadrate, Energieaufnahme; Gefüllte Rhomben, Proteinaufnahme. Die durchgezogenen Kurven entsprechen dem angestrebten Ziel der Energie- und Proteinzufuhr in unserem Ernährungsprotokoll.

Loui A, Tsalikaki E, Walch E, Maier K, Obladen M. Growth in infants < 1500 g birthweight during the first 5 weeks. *Early Hum Dev* 2008, 84: 645- 50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2008.04.005>

3.6 Spurenelemente und antioxidative Enzyme bei extrem untergewichtigen Frühgeborenen (< 1000 g)

Hintergrund: Es wird angenommen, dass Sauerstoffradikale zu den typischen Erkrankungen von Frühgeborenen wie BPD, IVH, ROP und NEC beitragen. Unser Ziel war es, zu untersuchen, ob diese Erkrankungen mit Störungen der Aktivitäten der antioxidativen Enzyme und mit niedrigen Konzentrationen der Spurenelemente, die Ko-Faktoren der antioxidativen Enzyme sind, verbunden sind.

Methoden: 209 Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g wurden in die Europäische multizentrische randomisierte Erythropoietin (rhEPO)- Studie eingeschlossen. 155 von ihnen entwickelten eine oder mehrere der oben erwähnten Frühgeborenen-Erkrankungen. Wir analysierten Zink, Kupfer, Eisen und Selen in Plasma und Erythrozyten, die Aktivitäten von Superoxiddismutase (CuZn-SOD), Glutathionperoxidase (GSH-Px) und Katalase (CAT) in den Erythrozyten am 3. und 68. Lebenstag.

Ergebnisse: Zink, Eisen, Selen im Plasma und Selen im Erythrozyten fielen vom 3. bis zum 68. Lebenstag ab ($p < 0,01$). Zink im Erythrozyten ($p < 0,001$), CuZn-SOD ($p < 0,01$) und CAT ($p < 0,05$) stiegen an. Die Aktivität der GSH-Px blieb unverändert. Zwischen den mit rhEPO behandelten Gruppen und der Kontrollgruppe wurden keine Unterschiede beobachtet. Die Aktivitäten der antioxidativen Enzyme korrelierten nicht mit dem Gestationsalter. Bei Frühgeborenen mit BPD, IVH, ROP oder NEC, waren die Aktivitäten der CuZn-SOD und der CAT ($p < 0,05$) am 68. Lebenstag höher als bei Frühgeborenen ohne diese Erkrankungen. CuZn-SOD und GSH-Px am 3. Lebenstag und CuZn-SOD am 68. Lebenstag korrelierten positiv ($p < 0,05$) mit der Dauer der O₂-Therapie.

Schlussfolgerungen: Bei extrem untergewichtigen Frühgeborenen fielen die Konzentrationen der Spurenelemente über die ersten zehn Lebenswochen ab. Niedrige Konzentrationen der Spurenelemente beeinflussten nicht die Aktivitäten der CuZn-SOD, GSH-Px und der CAT. Typische Erkrankungen des Frühgeborenen waren nicht mit erniedrigten Aktivitäten der antioxidativen Enzyme verbunden. [60]

Ausgewählte Ergebnisse:

Die Multizenterstudie an 14 Europäischen Perinatalzentren bot die Möglichkeit, an einer großen Population von Frühgeborenen unter 1000 g erstmals Perzentilen der Konzentration von Spurenelementen und antioxidativen Enzymen zu erstellen (Tabelle 11) und deren Bezug zu Krankheiten zu untersuchen, die mit verminderter antioxidativer Aktivität in Zusammenhang gebracht werden.

Tab. 11 Perzentilen der Spurenelement-Konzentrationen und der Aktivitäten der antioxidativen Enzyme bei 209 Frühgeborenen < 1000 g am 3. Lebenstag

Perzentile	3	5	10	25	50	75	90	95	97
<i>Plasma</i>									
Zn (µg/l)	564	621	774	954	1200	1452	1799	2016	2291
Cu (µg/l)	134	183	244	326	410	494	572	654	690
Fe (mg/l)	0,96	1,03	1,30	1,72	2,68	4,55	7,52	12,07	16,87
Se (µg/l)	23,5	25,5	29,5	39,3	47,2	55,0	66,8	77,2	83,2
<i>Ery</i>									
Zn (µg/l)	2,70	3,50	4,43	6,06	8,32	12,97	19,56	25,40	32,93
Cu (µg/l)	0,82	0,90	1,33	1,98	2,43	3,02	4,09	5,48	6,59
Se (µg/l)	124	133	199	285	392	549	783	1166	1298
SOD (U/g Hb)	893	955	1018	1136	1349	1668	1913	2041	2084
GSH-Px (U/ g Hb)	2,8	3,1	3,8	4,7	6,3	7,6	9,2	11,1	11,5
CAT (x10 ⁴ U/g Hb)	1,8	2,0	2,3	3,4	4,4	5,2	5,9	6,7	7,3
Ery Lysat Hb (g/l)	31,1	35,5	47,6	67,8	95,6	142,8	261,6	295,7	316,5

Zn, Zink; Cu, Kupfer; Fe, Eisen; Se, Selen; Ery, Erythrozyt; SOD, Superoxiddismutase; GSH-Px, Glutathionperoxidase; CAT, Katalase; Hb, Hämoglobin; Ery-Lysat, resultierte nach Zentrifugation der Blutproben, Separierung des Plasmas, Waschung der Erythrozyten, Einfrieren bei – 20°C und Auftauen vor der Analyse. Alle Daten als Perzentilen dargestellt.

Am Tag 3 fanden sich keine Unterschiede in den Enzymaktivitäten von Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase und Katalase in den Erythrozyten zwischen Frühgeborenen, welche später eine BPD, IVH, ROP oder NEC entwickelten, und solchen Frühgeborenen, bei denen diese Komplikationen bzw. Krankheiten nicht auftraten.

Loui A, Raab A, Maier RF, Brätter P, Obladen M. Trace elements and antioxidant enzymes in extremely low birthweight infants. *J Trace Elem Med Biol* 2010; 24: 111-118
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2009.11.004>

3.7 Wachstum von sehr untergewichtigen Frühgeborenen unter erhöhter Zufuhr von Aminosäuren und Protein

Hintergrund: Ziel war es, den Einfluss einer enteralen Ernährung mit einer, entsprechend den aktuellen Ernährungsempfehlungen, höheren Proteinmenge bei mit Muttermilch ernährten, sehr untergewichtigen Frühgeborenen (< 1500 g) auf das Wachstum in den ersten 5 Lebenswochen zu untersuchen.

Methoden: Körpergewicht, Körperlänge und Kopfumfang wurden bei Frühgeborenen < 1500 g nach Einführung der „Hoch-Protein-Strategie“ in der Ernährung gemessen.

Ergebnisse: 45 Frühgeborene mit einem (Median/ Quartile) Gestationsalter von 27+6 (26+0/29+6) SSW und einem Geburtsgewicht von 984 (675/1130) g wurden eingeschlossen. Eine parenterale Ernährung wurde für 16 (14/18) Tage verabreicht, die Aufnahme über die Ernährung erreichte die Zielparameter 4,3 (4,0/4,4) g/kg/Tag Protein, 128 (119/131) kcal/kg/Tag Energie. Die Muttermilch wurde, neben einem Fortifier, zusätzlich mit 0,5-2,3 g/kg/Tag von einem Proteinpulver angereichert. Es wurde ein Wachstum annähernd dem intrauterinen Wachstum gesehen: Gewichtszunahme Lebenstag 8-35: 17,6 (14,9/20,5) g/kg/Tag, Kopfumfangwachstum Lebenstag 1-35: 0,70 (0,50/0,80) cm/Woche, Körperlängenwachstum Lebenstag 1-35: 1,0 (0,8/1,2) cm/Woche. Es konnte gezeigt werden, dass die Gesamtproteinaufnahme einen signifikanten Einfluss auf die Gewichtszunahme der Frühgeborenen bis zum 35. Lebenstag hatte.

Schlussfolgerungen: Die Ernährung mit einer hohen Proteinmenge ermöglichte eine Gewichtszunahme und ein Kopfumfangwachstum in den ersten fünf Lebenswochen ähnlich der fetalen Wachstumskurve. Unsere Daten unterstützen die Empfehlungen der ESPGHAN von 2010. [61]

Ausgewählte Ergebnisse:

Bei den Frühgeborenen der Kohorte aus dem Jahre 2010 wurden die Ernährungsziele der ESPGHAN erreicht durch Muttermilch-Ernährung und parenterale Unterstützung im Median während der ersten 16 Lebenstage und zusätzliches Protein-Supplement (Aptamil Protein plus, Milupa GmbH) vom Lebenstag 7 an (Tabelle 12,

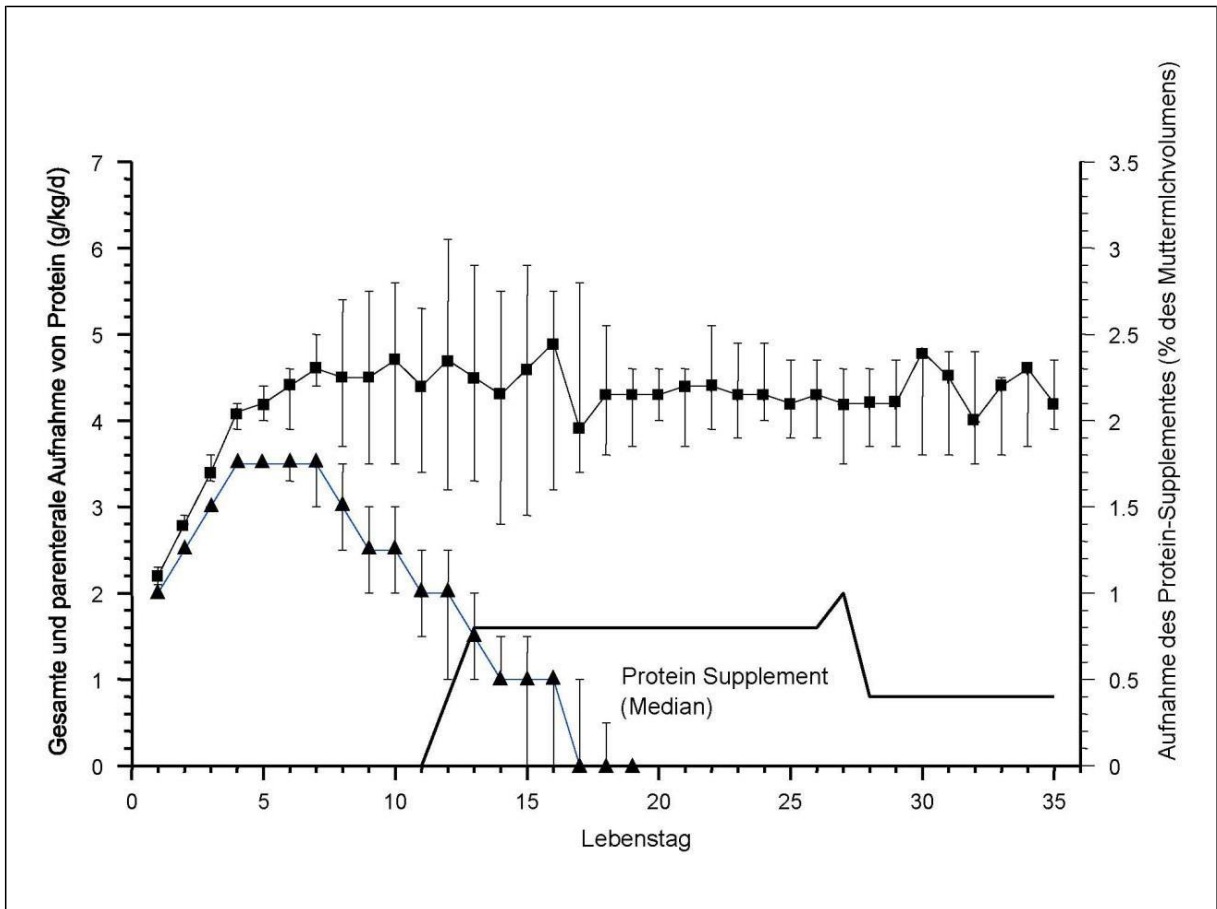
Abbildung 10). Die Protein-Supplementierung wurde im Durchschnitt von Lebenstag 11 bis 45 beibehalten. Dabei erhielten im Median 88 % der Kinder mehr als die Hälfte der zugeführten Nahrung in Form von Muttermilch. Das erreichte Wachstum näherte sich der fetalen Wachstumskurve an.

Tab. 12 Ernährung und Wachstum sehr untergewichtiger Frühgeborener (< 1500 g)

	Kohorte 2010 (n= 43)
Parenterale Ernährung (Tage) Proteinaufnahme	16 (14/18)
Lebenstag 1-7 (g/kg/Tag) Proteinaufnahme	3,7 (3,5/3,9)
Lebenstag 8-35 (g/kg/Tag) Proteinaufnahme	4,4 (4,2/4,5)
Lebenstag 1-35 (g/kg/Tag) Aufnahme von Kalorien	4,3 (4,0/4,4)
Lebenstag 1-7 (kcal/kg/Tag) Aufnahme von Kalorien	79 (73/86)
Lebenstag 8-35 (kcal/kg/Tag) Aufnahme von Kalorien	137 (130/144)
Lebenstag 1-35 (kcal/kg/Tag) Volumenaufnahme	128 (119/131)
Lebenstag 1-7 (ml/kg/Tag) Volumenaufnahme	133 (117/151)
Lebenstag 8-35 (ml/kg/Tag) Volumenaufnahme	164 (158/174)
Lebenstag 1-35 (ml/kg/Tag) Muttermilch > 50% (n,%)	159 (153/168)
Muttermilch- Fortifier (Tage)	38 (88)
Proteinanreicherung der Muttermilch (Tage)	41 (31/56)
	34 (20/42)
Gewichtszunahme Lebensstage 1-7 (g/kg/Tag)*	-1,7 (-5,7/4,0)
Gewichtszunahme Lebensstage 8-35 (g/kg/Tag)*	17,6 (14,9/20,5)
Gewichtszunahme Lebensstage 1-35 (g/kg/Tag)*	14,4 (12,5/16,5)
Wachstum Körperlänge Lebensstage 1-35 (cm/ Woche)	1,00 (0,80/1,20)
Wachstum Kopfumfang Lebensstage 1-35 (cm/ Woche)	0,70 (0,50/0,80)

Daten als n (%) oder als Mediane (25./75. Quartile); * Die Gewichtszunahme (g/kg/Tag) von Geburt bis zum 7. Lebenstag wurde kalkuliert, indem die Gewichtszunahme über den Gesamtzeitraum durch den Zeitraum in Tagen und durch das Geburtsgewicht geteilt wurde. Die Gewichtszunahme (g/kg/Tag) von Lebenstag 1-35 sowie von Lebenstag 8-35 wurde kalkuliert, indem die Gewichtszunahme über den jeweiligen Zeitraum durch den Zeitraum in Tagen und durch den Mittelwert zwischen Geburtsgewicht und Körpergewicht an Lebenstag 35 geteilt wurde.

Abb. 10 Ernährung von 45 sehr untergewichtigen Frühgeborenen (< 1500 g) im Jahr 2010



Gesamt-Proteinaufnahme (Quadrate, g/kg/Tag) und medianer prozentualer Anteil der Protein-Supplementierung des verabreichten Volumens an Muttermilch (durchgezogene Linie, 0,8 % Proteinpulver entspricht 1 g/kg/Tag Protein) in der Kohorte von 2010 (n= 45). Die Dreiecke zeigen die parenterale Zufuhr von Aminosäuren (g/kg/Tag). Die Daten werden als Mediane (Quartile) gezeigt.

Loui A, Bühler C. Growth of very low birth weight infants after increased amino acid and protein administration. *J Perinatal Med* 2013; 41: 735- 741.
<http://dx.doi.org/10.1515/jpm-2013-0010>

4. Diskussion der Ergebnisse und Ausblick

Mit den heutigen therapeutischen Möglichkeiten der Neonatologie in den industrialisierten Ländern überleben ca. 90 % der sehr untergewichtigen Frühgeborenen (< 1500 g Geburtsgewicht). Damit rückt die Überlebensqualität dieser Kinder in den Mittelpunkt der intensivmedizinischen Bemühungen. Trotz ständiger Verbesserungen der Therapie blieben das postnatale Wachstum und die spätere neurologische und motorische Entwicklung lange Zeit für einen Teil der Frühgeborenen unzureichend [62,63]. Dafür wurde als ein Faktor eine inadäquate Ernährung verantwortlich gemacht [57]. In der vorliegenden Arbeit werden Studien berichtet, die zum Ziel hatten, einerseits den Status der Versorgung der Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g mit Nährstoffen, Mineralien und Spurenelementen zu erheben und andererseits die Auswirkungen der Intensivierung der Ernährung durch die erhöhte Zufuhr von ausgewählten Nährstoffen, Mineralien und Spurenelementen durch Kohortenstudien und randomisierte Studien zu untersuchen.

4.1 Spurenelemente in der Ernährung von Frühgeborenen

Es wird davon ausgegangen, dass Frühgeborene schon aufgrund von reduzierten, intrauterin erworbenen Speichern postnatal einen höheren Bedarf an Spurenelementen haben. Wir konnten zeigen, dass bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von < 1000 g unter einer Zufuhr im unteren empfohlenen Bereich (nach aktuellen Empfehlungen sogar unter dem Bereich [8,9,18]) die Zinkbilanz sehr variabel und zumeist negativ war [55]. Dabei korrelierte die Absorption mit der Zinkaufnahme. Higashi et al. sahen ebenfalls eine negative Zinkbilanz bei noch niedrigerer Zink- Zufuhr als in unserer Studie, während Schanler et al. mit einer deutlich höheren Zinkaufnahme eine höhere Retention, als intrauterin, fanden [65,66]. Wastney et al. schlussfolgerten aus ihren Studien, dass für eine Gewichtszunahme von 15 g/kg/Tag eine Zinkzufuhr von 1504 µg/kg/Tag erforderlich sei [67]. Die Bioverfügbarkeit von Zink wird durch eine höhere Proteinzufuhr verbessert [68]. Eine zu niedrige Zufuhr von Zink und Protein haben eine negative Zinkbilanz bei unseren Frühgeborenen bedingt und zu einer Wachstumsretardierung geführt.

Selen wurde in unserer Studie sehr gut aus Muttermilch absorbiert, was die Ergebnisse anderer Autoren bestätigt [58,69]. Durch eine Selenzufuhr bei Frühgeborenen im unteren empfohlenen Bereich kam es trotz der guten Absorption zum Abfall der Selenkonzentrationen im Serum in den ersten 12 Lebenswochen. Wir untersuchten auch Proben von Säuglingen aus Venezuela, einem selenreichen Gebiet. Eine in Venezuela 10-fach höhere Aufnahme von Selen als in Deutschland hatte zur Folge, dass die Serum-Selenwerte 4-fach höher waren und in den ersten 16 Lebenswochen nur einen geringen Abfall zu verzeichnen hatten [58]. In Abhängigkeit von der chemischen Form von Selen korrelierte die Absorption, wie von anderen Autoren gezeigt wurde, mit der Selen- Aufnahme [70,71]. Der Gehalt an Selen in den Erythrozyten, als besseres Langzeitmaß für die Körperspeicher, lag bei den Frühgeborenen < 1500 g um 25% niedriger als bei den venezuelanischen Säuglingen und fiel in den nächsten Wochen weiter ab. Das zeigt, dass sich die Selenspeicher bei den Frühgeborenen unter dem aktuellen Ernährungsprotokoll zunehmend entleerten. Bei 9 von 62 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von 1000-1500 g und 1 von 10 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von < 1000 g fanden wir Selenwerte im Serum von < 10 µg/l, die in der Literatur als Selenmangel definiert werden. Die sich aus unserer Studie ergebene Vermutung, dass Selen bei Frühgeborenen zusätzlich supplementiert werden sollte, muss in einer randomisierten Studie geklärt werden [58].

Mit der Analyse der Konzentrationen der Spurenelemente in Serum und Erythrozyten bei 209 extrem unreifen Frühgeborenen (< 1000 g) im Rahmen einer Europäischen multizentrischen Studie war es uns erstmals möglich, Perzentilen für die Spurenelementkonzentrationen am 3. Lebenstag aufzustellen [60]. Wenn korrigiert für das Gestationsalter, waren in anderen Studien die Serumkonzentrationen im Nabelschnurblut für Selen höher [72] und für Zink und Kupfer ähnlich [73] wie die in Venenblut gemessenen Werte unserer Studie. Itabashi et al. berichtete niedrigere Serum-Zinkkonzentrationen als wir [74]. Die Zink- und Selen-Konzentrationen fielen in den ersten Lebenswochen ab. Daraus ergibt sich die Hypothese, dass die unterschiedlichen Zinkkonzentrationen und die sinkenden Werte von Zink und Selen über die Zeit durch eine unterschiedlich hohe und zu niedrige Aufnahme an

Spurenelementen bedingt war.

Zink, Selen und Kupfer sind Ko-Faktoren für die antioxidativen Enzyme CuZn-SOD, GSH-Px und Katalase. Mit zunehmendem Lebensalter absinkende Konzentrationen der o.g. Spurenelemente haben jedoch in unserer Untersuchung nicht zu einer Komprimierung der Enzymaktivitäten geführt [60]. Eine Studie an Nabelschnurblut zeigte, dass die Aktivitäten der CuZnSOD und der Katalase, aber nicht die der GSH-Px in einem Gestationsalter von 24 bis 38 Schwangerschaftswochen ansteigen [75]. Das konnten wir mit den postnatal erhobenen Werten bestätigen. Die in Studien gemessenen Aktivitäten der antioxidativen Enzyme sind sehr unterschiedlich, die Studien sind durch verschiedene Einschlußkriterien nur begrenzt vergleichbar. Sowohl höhere als auch niedrigere Enzymaktivitäten sind gemessen worden [76-78]. Extrem unreife Frühgeborene unserer Studie (n=209), bei denen eine oder mehrere der typischen Frühgeborenenenerkrankungen BPD, IVH, ROP und NEC (n=155) auftraten, hatten höhere Aktivitäten der CuZnSOD und der Katalase mit 10 Lebenswochen als Frühgeborene ohne diese Erkrankungen. Die Aktivität der GSH-Px blieb unverändert. Eine bereits erhöhte Aktivität der CuZnSOD am 3. Lebenstag bei Frühgeborenen, die später eine BPD entwickelten, wie von Fu et al. und Silvers et al. beschrieben, konnten wir nicht bestätigen [60,79,80].

Die Aktivität der GSH-Px war in unserer Studie nicht signifikant unterschiedlich zwischen Frühgeborenen und Reifgeborenen [60]. Das deutet darauf hin, dass die Selen-abhängige GSH-Px gesättigt war und Selen in den Erythrozyten der Neugeborenen nicht nur an dieses Enzym gebunden ist. Speziationsanalysen von Erythrozytenlysaten von Raab et al. zeigten, dass Selen sowohl an die GSH-Px als auch an das Hämoglobin im Erythrozyten gebunden wird [81]. Im Gegensatz zu Erwachsenen kann die GSH-Px somit nicht zur Diagnostik eines Selenmangels bei Frühgeborenen genutzt werden, wie auch von Daniels et al. gezeigt wurde [82].

In einer randomisierten Studie untersuchten wir eine erhöhte Zinkzufuhr von 0,6 mg/kg/Tag gegen eine Standardzufuhr von 0,3 mg/kg/Tag Zink. Diese Änderung hatte keinen signifikanten Einfluß auf die Serum- Zink- Konzentration. Ein niedriger Serum-Zink-Spiegel von < 0,49 mg/l trat überhaupt selten und um 50 % weniger

unter der höheren Zufuhr mit 6 Lebenswochen auf. Ein symptomatischer Zinkmangel wurde in der Studie nicht diagnostiziert. Ein subklinischer Zinkmangel kann zu einer Wachstumsstörung führen. Die erhöhte Zinkzufuhr unserer Studie verbesserte jedoch die Zunahme von Gewicht, Kopfumfang und Körperlänge nicht [57]. Schanler et al. fanden in ihrer Studie, dass eine Zinkzufuhr von 1,9 mg/kg/Tag nötig ist, um eine Gewichtszunahme von 22 g/kg/Tag zu erreichen [66]. Wir schlussfolgerten, dass die aktuell zur Verfügung stehenden Muttermilch-Fortifier keine ausreichende Zinkzufuhr ermöglichen und eine Erhöhung der Zinkzufuhr über 0,6 mg/kg/Tag notwendig ist. Zum Zeitpunkt unsere Studie lag die Empfehlung zur Zinkzufuhr bei 0,8 bis 1,0 mg/kg/Tag [10,83]. Inzwischen wurde die Empfehlung auf 1,1 bis 2,0 mg/kg/Tag erhöht [8]. Aktuell werden alle in Deutschland erhältlichen Muttermilch-Fortifier dementsprechend mit den Spurenelementen Zink, Selen, Kupfer und Mangan angereichert, sodass die Zufuhrempfehlung jetzt erreicht werden kann.

4.2 Mineralien in der Ernährung von Frühgeborenen

Durch Mineralien-Bilanzstudien konnten wir zeigen, dass bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von < 1000 g trotz einer Supplementierung der Muttermilch mit einem Fortifier in der vom Hersteller angegebenen Standarddosierung und trotz zusätzlicher Substitution von Mineralien Mangelerscheinungen an Kalzium, Phosphat und Magnesium auftreten. Die altersentsprechende Knochenmineralisierung erfordert eine suffiziente Aufnahme dieser Mineralien. Verglichen mit den Empfehlungen der ESPGHAN von 1987 [83] lag unsere gemessene Kalziumaufnahme deutlich niedriger, die gemessenen Aufnahmen von Phosphat und Magnesium waren im unteren empfohlenen Bereich. Eine zu niedrige Phosphataufnahme kann zu einer Phosphatverarmung führen, die die Entwicklung einer Osteopenia praematurorum nach sich zieht. 5 von 10 untersuchten Frühgeborenen zeigten einen Phosphatmangel mit einer Hypophosphatämie, einer Hyperkalziurie und einer erhöhten Aktivität der alkalischen Phosphatase (AP) [56]. Als eine Ursache der zu niedrigen Aufnahme der Mineralien kann die Verwendung von gespendeter Frauenmilch und der Abfall des Gehaltes der Muttermilch an Mineralien mit zunehmender Stilldauer angesehen werden. Die zusätzliche Supplementierung von

Mineralien war ebenfalls unzureichend.

Mit der Massenbilanz konnte die tatsächliche Mineralienabsorption über den Gastrointestinaltrakt gemessen werden. Da wir mit dieser Methode über die endogene Exkretion der Mineralien keine Aussage machen konnten, tendierten wir dazu, die Bioverfügbarkeit der Mineralien zu unterschätzen. Unsere Kalziumabsorption war niedriger als die von anderen Autoren [66,84,85]. Bronner et al. berichteten einen linearen Zusammenhang zwischen der Kalziumaufnahme und der Kalziumabsorption [86]. Unsere Kalziumretention war aufgrund der niedrigen Aufnahme Null oder negativ.

Andere Studien mit einer höheren Aufnahme an Mineralien sahen eine positive Kalziumretention und mit unseren Werten vergleichbare Retentionen für Phosphat und Magnesium [66,84,85,87,88]. Unsere Retention der Mineralien lag deutlich unter den intrauterinen Aufnahmewerten [46,49]. Eine aktuelle duale Tracerstudie mit stabilen Isotopen von Hicks et al. zeigte, dass die totale Kalziumabsorption bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g mit/ ohne BPD bei $58,4 \pm 4,6$ % / $50,3 \pm 4,0$ % lag und sich damit nicht von unseren Daten unterschied [89]. Die Aktivität der AP ist unter anderem ein Maß für die Knochenbildung. Frühgeborene < 1000 g haben häufig erhöhte Aktivitäten. Es wurde ein linearer Zusammenhang zwischen der AP und dem Längenwachstum von Geburt bis korrigiert 18 Monate gefunden [90]. Unsere AP lag zwischen 400-800 U/l, nur in einem Fall > 800 U/l. Mitchell et al. fanden auch unter den aktuellen Ernährungsempfehlungen bei 25 % der extrem untergewichtigen Frühgeborenen Zeichen einer Osteopenie und/ oder Frakturen [91].

Das anorganische Phosphat war mit 7 Wochen niedriger als in anderen Studien [88,92,93]. Die Phosphat-Homöostase wird hauptsächlich über die Serumkonzentration geregelt. Die Konzentration von Phosphat im Serum ist bei Säuglingen physiologisch hoch zur Förderung der Knochenmineralisierung und der Gewebesynthese sowie zur Hemmung der Knochenresorption. Die Konzentration des anorganischen Phosphates war mit 7 Lebenswochen mit einem Mittelwert \pm SD von $1,47 \pm 0,30$ mmol/l sehr niedrig und deutet auf eine zu geringe Phosphatzufuhr in

unserer Studie hin. Wie auch in unserer Studie gezeigt, muß in Betracht gezogen werden, dass durch die Therapie mit Coffein und Diuretika die Ausscheidung verschiedener Mineralien und damit ihr Bedarf erhöht wird [94,95].

Unsere Studie zeigte, dass der Gehalt an Kalzium, Phosphat und Magnesium in dem Muttermilch- Fortifier FM 85 (Nestlé, frühere Rezeptur) zu niedrig war. Auch durch unsere zusätzliche Supplementierung von Mineralien konnten wir den Bedarf nicht ausreichend decken. Um die Mineralienzufuhr bedarfsgerechter steuern zu können, stellten wir daraufhin unser Supplementierungsschema um. Anstelle der Urinausscheidungen von Kalzium und Phosphat waren nun nach Backström et al. die Serumkonzentrationen von anorganischem Phosphat und Kalzium sowie die Aktivität der AP und der Kalzium/ Kreatininquotient im Urin ausschlaggebend. Backström zeigte, dass eine AP von $> 900 \text{ U/l}$ (mit der Messmethode bei 37°C : $\text{AP} > 600 \text{ U/l}$) und ein anorganisches Phosphat von $< 1,8 \text{ mmol/l}$ Zeichen einer verminderten Knochenmineralisierung sind und dass diese Methode zum Nachweis einer Osteopenia praematurorum eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 70 % aufweist [96]. Zudem wurde ein neues Supplement bestehend aus Kalziumglukonat und Kalziumglyzerophosphatglukonat als Pulver mit einem Verhältnis von Kalzium: Phosphat von 1,6, anstelle der Einzelsupplemente Kalziumglukonat und Natriumglyzerophosphat, eingeführt.

In der randomisierten Studie von 2004 untersuchten wir die Muttermilch-Fortifier FM 85 und BMF, wobei BMF eine höhere Menge an Kalzium, Phosphat und Magnesium als FM 85 enthielt [57]. Auch hier war die Zufuhr an Mineralien über mit den Fortifiern angereicherte Muttermilch nicht ausreichend und machte eine zusätzliche, individuelle Supplementierung notwendig. Diese wurde jetzt anhand der Parameter Kalzium, anorganisches Phosphat und AP im Serum und Kalzium/ Kreatinin-Quotient im Urin gesteuert. In der BMF-Gruppe wurde insgesamt mehr Kalzium, Phosphat und Magnesium zugeführt, gefolgt von signifikant höherem anorganischen Phosphat mit 3 Wochen und niedrigerer Aktivität der AP mit 6 Wochen, im Vergleich mit der FM 85-Gruppe. In Diskussion ist, welche Aktivität der AP als kritischer Wert für eine Osteopenia praematurorum anzusehen ist. Backström und Rauch [96,97] sahen dafür eine Grenze bei 900 U/l . AP-Aktivitäten in dieser Höhe traten in unserer Studie

nicht auf. Mitchell et al. fanden bei Frühgeborenen < 1000 g Geburtsgewicht häufig eine Aktivität der AP > 600 U/l und schlugen bei einer mehrfachen Messung einer AP von > 800 U/l eine zusätzliche radiologische Diagnostik des Hand- oder Kniegelenkes zum Ausschluss von Frakturen vor [91]. Lucas et al. berichteten, dass eine AP >1200 U/l mit einem reduzierten Längenwachstum mit korrigiert 18 Monaten einherging [90]. Die durchgeführten Studien machten bezüglich der Versorgung der Frühgeborenen < 1500 g mit Mineralien erneut deutlich, dass die damals erhältlichen Muttermilch-Fortifier nicht ausreichend an ihre Bedürfnisse angepasst waren. Folgerichtig wurden von den Herstellern die Konzentrationen von Kalzium, Phosphat und Magnesium im Fortifier erhöht.

Zur Dauer einer notwendigen Supplementierung von Mineralien für die sehr unreifen Frühgeborenen können noch keine abschließenden Aussagen getroffen werden. Der Kurzeiteffekt zeigte für sie eine eindeutige Verbesserung der Knochenmineralisation. Die Knochenmineralisation lag für mit angereicherter Muttermilch ernährte Frühgeborene mit korrigiert 3 und 6 Monaten in demselben Bereich wie für Frühgeborene, die Frühgeborenen-Formula erhielten [98]. Bis zum Alter von 12 Jahren fand sich kein Unterschied in der mit der Dualenergie-Röntgenabsorptiometrie (DXA) gemessenen Knochenmineralisierung mehr, unabhängig, welche Mengen an Mineralien supplementiert wurden [99].

4.3 Protein in der Ernährung von Frühgeborenen

Basierend auf Daten mehrerer Autoren, die eine höhere Wachstumsgeschwindigkeit unter einer höheren Proteinzufuhr beschrieben, führten wir 2010 eine Beobachtungsstudie durch, in der wir das Wachstum der Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von < 1500 g unter einer „Hoch-Protein-Strategie“ in der Ernährung untersuchten. Dabei wurde einerseits am 1. Lebenstag mit einer proteinreichen teilparenteralen Ernährung begonnen und andererseits die Muttermilch frühzeitig mit einem Fortifier und zusätzlich mit einem Proteinpulver angereichert. Ein exaktes Ernährungsprotokoll wurde eingeführt, das eine vollparenterale Zufuhr von 3,0 g/kg/Tag und eine teilparenterale/ enterale Zufuhr von 3,5 bis 4,5 g/kg/Tag Protein als Zielparameter vorgab. Dadurch lag, verglichen mit unserer Studie aus dem Jahre 2000 [59], die

Proteinzufuhr in der aktuellen Studie mit einer medianen Zufuhr von 4,3 g/kg/Tag höher und ein schnelleres Wachstum wurde beobachtet. Das stimmt mit den Studienergebnissen von Costa-Orvay et al. und Brumberg et al. [100,101] überein.

Mit dem in unserer Studie untersuchten Proteinsupplement (Aptamil Protein plus, Milupa GmbH, Friedrichsdorf), ist es jetzt möglich, eine individuelle Anreicherung der Muttermilch mit höheren Mengen an Protein durchzuführen. Dabei ist es nach unserer Erfahrung bedeutsam, täglich Berechnungen der Proteinzufuhr für den Patienten durchzuführen, um Unter- und Überdosierungen zu vermeiden.

Für die adäquate Ernährung mit Protein ist nicht nur die enterale, sondern auch die parenterale Zufuhr wichtig. Im Vergleich der eigenen Studien von 2000 und 2010 haben wir 2010 frühzeitig nach der Geburt mit einer Zufuhr von 2 g/kg/Tag Aminosäuren begonnen. Damit wurde die kontinuierliche intrauterine Zufuhr von Nährstoffen über die Plazenta, darunter von 2,0 bis 2,5 g/kg/Tag Aminosäuren, unmittelbar postnatal fortgesetzt. Das ermöglicht es, eine Wachstumsretardierung in den ersten 4 Lebenswochen zu vermeiden, wie auch von Senterre et al. berichtet wurde [64]. Eine parenterale Zufuhr von 1,5 bis 3,5 g/kg/Tag führte in anderen Studien zu einem Anstieg der Proteinsynthese um 35 bis 40 % und zu einer positiven Stickstoffbilanz [102,103].

4.4 Kommerzielle Muttermilch-Fortifier und ihre Limitierungen

Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass für Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von < 1500 g eine Anreicherung der Muttermilch mit verschiedenen Nährstoffen, Mineralien und Spurenelementen für eine adäquate Ernährung erforderlich ist. Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von < 750 g, von 750-999 g und von 1000-1499 g haben aber sehr unterschiedliche Bedürfnisse für die Ernährung. Die gleiche Dosierung eines Fortifiers für alle Frühgeborene kann dem nicht gerecht werden. Außerdem besteht eine hohe individuelle Variabilität in der Zusammensetzung der Muttermilch zwischen den einzelnen Müttern [104,105]. Damit ist unter einer einheitlichen Dosierung des Fortifiers eine unzureichende Zufuhr an Nährstoffen mit der Folge einer Wachstumsretardierung zu befürchten [106,107]. Besonders bei der Verwendung von gespendeter Frauenmilch wird dieser Effekt durch den Abfall der

Konzentrationen der Bestandteile der Muttermilch über die zunehmende Stilldauer noch verstärkt [108]. Neben einer standardisierten Anreicherung entsprechend den Empfehlungen des Herstellers, werden auch eine auf einen Nährstoff zugeschnittene Anreicherung sowie eine insgesamt an den Bedarf angepasste Anreicherung in der klinischen Praxis angewendet [109,110]. Durch die individuelle Anreicherung der Muttermilch mit einem Kohlenhydrat-, Protein- bzw. Fettsupplement nach einer durchgeführten Analyse der Muttermilch glichen Rochow et al. die Variabilität der Muttermilchzusammensetzung aus [111]. Alle Muttermilchproben dieser Studie benötigten eine Kohlenhydrat- und Proteinanreicherung und 45 % der Proben eine Fettsupplementierung, um die empfohlenen Zielparameter der Ernährung zu erreichen. Eigene frühere Studienergebnisse zeigten eine unzureichende Konzentration von Protein, Kalzium, Phosphat, Zink und z.T. Selen in der Muttermilch für die adäquate Ernährung von Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von < 1500 g. Auch neuere Studien und Metaanalysen ergaben, dass die Anreicherung der Muttermilch mit Protein bzw. mit einem Fortifier zu einer Verbesserung von Stickstoffretention, kurzfristige Zunahme von Gewicht, Kopfumfang, Körperlänge und Knochenmineralisierung führt [112- 115].

Ein erfolgversprechender Weg für eine adäquate Ernährung in der Praxis der neonatologischen Intensivstation ist die für jedes Frühgeborene individuell angepasste Anreicherung der Muttermilch. Als Zielparameter kommen dafür die Aufnahme der empfohlenen Menge an Protein und Kalorien, die Steuerung der Nährstoffzufuhr nach Labormessungen (z.B. Harnstoff im Blut, Gehalt von Protein in der Muttermilch) und das Erreichen der intrauterinen Gewichtszunahme von > 15 g/kg/Tag in Frage. Dabei ist es in den ersten drei Lebenswochen besonders wichtig, nur die tatsächlich verabreichten Nahrungsmengen zur Berechnung zu erfassen. Arslanoglu et al. stellten 2012 ein neues Schema zur Anreicherung der Muttermilch mit verschiedenen Mengen eines Fortifiers und eines Proteinpulvers, dosiert nach Messwerten des Harnstoffs im Blut (Zielbereich = 10 bis 16 mg/dl) vor [110]. In unserer Studie von 2010 konnten wir durch die Anreicherung der Muttermilch mit einem Fortifier und einem zusätzlichen Proteinpulver bis zum Erreichen der empfohlenen Zielparameter der Nährstoffzufuhr ein Wachstum entsprechend den

intrauterinen Werten erreichen [61]. Das unterstützt die 2010 von der ESPGHAN veröffentlichten Ernährungsempfehlungen [8].

4.5 „Aggressive“ Ernährung von Frühgeborenen, Wachstum und Entwicklung

Eine Wachstumsretardierung tritt immer noch zu häufig während der Behandlung der Frühgeborenen auf der Intensivstation auf. Clark et al. fanden bei 24.000 Frühgeborenen, die zwischen 23 und 34 SSW von 1997-2000 geboren wurden, bei Entlassung eine Hypotrophie < 10. Perzentile, die zu 28 % das Körpergewicht, zu 34 % die Körperlänge und zu 16 % den Kopfumfang betraf [116]. Dabei war die Hypotrophie umso ausgeprägter, je unreifer die Kinder waren. Zu 50 % muß eine inadäquate Ernährung dafür verantwortlich gemacht werden. Um das zu verhindern, sind die Ernährungsrichtlinien überarbeitet worden: parenterale Zufuhr: 3,0 g/kg/Tag Protein, 105 bis 115 kcal/kg/Tag Energie [10]; enterale Zufuhr: 3,8 bis 4,4 g/kg/Tag Protein, 130 bis 150 kcal/kg/Tag Energie [8-10]. Die fetale Proteinspeicherrate beträgt 1,8 g/kg/Tag [117]. Eine parenterale Gabe von 1,5 g/kg/Tag Aminosäuren ist nötig, um eine negative Stickstoffbilanz zu verhindern und eine Zufuhr von 3,5 g/kg/Tag ermöglicht eine positive Stickstoffbilanz entsprechend den intrauterinen Werten. Das Grundprinzip der „aggressiven“ parenteralen Ernährung ist es, am 1. Lebenstag mit einer mittleren Zufuhr von Aminosäuren und Lipiden zu beginnen und diese zügig zu steigern. Damit wird der intrauterine plazentare Fluß von Nährstoffen unmittelbar postnatal fortgesetzt und eine Wachstumsstörung verhindert. Vor der Ernährungsstudie von 2010 führten wir ein Ernährungsschema mit einer frühzeitig höheren parenteralen und enteralen Zufuhr entsprechend den aktuellen Empfehlungen ein. Der Entwicklungsweg des Ernährungsschemas in unserer Klinik widerspiegelt sich auch in den eigenen Ernährungsstudien von 2000 und 2010 [58,61]. Mit dem „aggressiveren“ Ernährungsprotokoll konnte die enterale Ernährung 2010 schneller aufgebaut werden, sodass die Dauer der parenteralen Ernährung kürzer war als im Jahre 2000. Insgesamt wurde 2010 signifikant mehr Protein und Energie zugeführt. Diese Änderung der Ernährungsrichtlinien führte in unserer Klinik zu einer deutlichen Beschleunigung des Wachstums der Frühgeborenen [61], das sich den intrauterinen Werten von Fenton et al. annäherte [11]. Shlomai et al.

berichtete von einer Kohorte von 13.531 VLBW-Frühgeborenen Israels (Gestationsalter von 24-32 SSW, im Zeitraum von 1995-2010 geboren), dass eine schwere postnatale Wachstumsretardierung, definiert als Abfall des Z-Scores für das Körpergewicht um > 2 , von 11,7 % (1995-2000) auf 5,2 % (2006-2010) abnahm [118]. Weitere Studien zeigten, dass eine höhere Aufnahme von Nährstoffen in den ersten Lebenswochen zu einem besseren Wachstum und zu einer besseren motorischen und neurologischen Entwicklung in einem korrigierten Alter von 18 Monaten und 5,5 Jahren führte [119,120]. Stephens et al. zeigten bei 148 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht < 1000 g, dass jede Erhöhung der Energiezufuhr um 10 kcal/kg/Tag in der ersten Lebenswoche mit einem 4,6-fach höheren Mental Developmental Index und jede Erhöhung der Proteinzufuhr um 1 g/kg/Tag in der ersten Lebenswoche mit einem 8,2-fach höheren Mental Developmental Index mit korrigiert 18 Monaten einherging [121]. In einer Nachuntersuchung von 773 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1000 g in einem korrigierten Alter von 30 Monaten, wurde ein unabhängiger Effekt von Muttermilch-Ernährung auf die mentalen und motorischen Scores des Bayley-Entwicklungstestes gezeigt. Jede Erhöhung der Aufnahme um 10 ml/kg/Tag Muttermilch führte zu einem Anstieg des Motorik-Entwicklungsindex (MDI) um 0,59 Punkte, des Psychomotorik-Entwicklungsindex (PDI) um 0,56 Punkte und des Gesamt Behavior Index um 0,99 Punkte [122].

Das unterstreicht die Bedeutung der frühen adäquaten Ernährung für die spätere Entwicklung der Frühgeborenen.

4.6 Woran sollte sich die Ernährung von Frühgeborenen orientieren?

Muttermilch wird als Goldstandard für die Ernährung von Säuglingen angesehen. Für Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von < 1500 g wird der Goldstandard außerdem in dem Erreichen der intrauterinen Wachstumskurven gesetzt, das heißt z.B. mit einer Gewichtszunahme von > 15 g/kg/Tag. Dafür ist die Kombination von früher „aggressiver“ parenteraler Ernährung (mit Kohlenhydraten, Aminosäuren, Fetten, Mineralien, Spurenelementen und Vitaminen) und enteraler Ernährung mit angereicherter Muttermilch (mit Fortifier, Proteinsupplement, Mineraliensupplement) essentiell. Das zeigen auch die Ergebnisse der eigenen Studien.

Die Durchführung von randomisierten Ernährungsstudien bei Frühgeborenen ist weiter erforderlich, gestaltet sich aber schwierig. Zum einen komplizieren die deutliche Unreife und damit verbundene Vulnerabilität dieser Kinder ihren Einschluss und die Studiendurchführung. Bei den meisten Fragestellungen müsste eine große Anzahl von Frühgeborenen eingeschlossen werden. Somit wäre eine multizentrische Studie erforderlich, wobei die Vergleichbarkeit der Ernährung in den einzelnen Studienzentren schwierig wäre. Zum anderen sind eine Vielzahl von Faktoren bei Ernährungsstudien beschrieben worden, die ihre Ergebnisse beeinflussen [123].

Die Einführung von standardisierten Ernährungsschemata und die tägliche Berechnung der Zufuhr haben zu einer Verbesserung der Ernährung und des Wachstums bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g geführt [124-126]. Dabei sollte ein zügiger Nahrungsaufbau von Geburt an erfolgen, da kein Zusammenhang eines schnellen Nahrungsaufbaus mit der Entstehung einer NEC gefunden wurde [127]. Die Bedeutung des Magenrestes ist dabei lange Zeit überbewertet worden und sollte beim Fehlen weiterer Symptome der Nahrungsunverträglichkeit kein Hindernis für die weitere Steigerung der Nahrung darstellen [128].

Zur Steuerung der Ernährung in der klinischen Praxis hat sich die regelmäßige Kontrolle der Wachstumsparameter Gewicht, Kopfumfang und Körperlänge bewährt. Methoden, wie quantitativer Knochenschall, Dualenergie-Röntgenabsorptiometrie (DXA) und Analyse der Nährstoffkonzentrationen in der Muttermilch, die in Studien verwendet wurden, sind hilfreich, stehen aber nicht in allen Kliniken zur Verfügung. Die genaue Überwachung von Ernährung und Wachstum erlangt besondere Bedeutung für die Frühgeborenen, die sehr krank sind, eine Störung der enteralen Ernährbarkeit und eine schwere BPD haben, und die somit gefährdet sind, eine Wachstumsstörung zu entwickeln. Das stellt hohe Anforderungen an die individualisierte parenterale und enterale Ernährung. Dafür halte ich das Erreichen der empfohlenen Zufuhrmengen an Nährstoffen und die regelmäßige Erhebung von Wachstumsparametern des Frühgeborenen und von Labormessungen in Blut und Muttermilch für die wichtigsten Steuerelemente.

4.7 Ausblick

Die Kenntnisse zur Ernährung des sehr unreifen Frühgeborenen sind durch zahlreiche Studien in den letzten 15 Jahren deutlich erweitert worden. Die Bedeutung einer bedarfsgerechten Ernährung für das Wachstum, die adäquate neurologische und motorische Entwicklung und die Verhinderung von Erkrankungen des Frühgeborenen wurde immer deutlicher.

Die parenterale und enterale Ernährung von Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g basiert verglichen mit anderen Bereichen der Medizin auf einer kleinen Anzahl von randomisierten klinischen Studien. Um die Ernährung evidenzbasierter durchführen zu können, sind weitere multizentrische randomisierte Studien erforderlich.

Aktuell gerade abgeschlossene oder geplante Studien bearbeiten dabei unter anderem folgende Themenbereiche:

- Ernährung mit einer höheren Menge an Aminosäuren und Protein:
Es wurde gezeigt, dass die intravenöse Gabe von 4 g/kg/Tag Aminosäuren gegenüber 2,5 g/kg/Tag keinen Vorteil für Wachstum und die spätere Entwicklung bringt [115]. Die enterale Zufuhr von 4 bis 5 g/kg/Tag Protein wurde mit einer Zufuhr von 3,5 g/kg/Tag verglichen und erbrachte eine signifikant bessere Zunahme von Gewicht und Kopfumfang sowie der Bayley Scores im Alter von korrigiert 18 Monaten [129]. In einer Cochrane-Analyse von 2014 zeigte Fenton, dass die Zufuhr von > 3 g/kg/Tag Protein im Vergleich mit < 3 g/kg/Tag signifikant höhere Werte der Gewichtszunahme und der Stickstoffretention ergab [112].
- Verhinderung einer Retinopathia prematorum durch Ernährungsintervention:
Die Häufigkeit des Auftretens einer ROP konnte durch die Ernährung mit Muttermilch, bedingt durch deren Gehalt an Antioxidanzien [130], durch eine forcierte Ernährung mit mehr Kalorien und Nährstoffen [131] und durch die intravenöse Gabe einer Fischöl enthaltenden Lipidemulsion (SMOF lipid®) [132] signifikant vermindert werden.
- Bedarf an DHA bei sehr unreifen Frühgeborenen:
Studien haben Anhaltspunkte dafür erbracht, dass eine höhere Zufuhr an DHA

für Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von < 1500 g sinnvoll ist [132]. Durch die Gabe von SMOF lipid[®] konnten die Blutspiegel von DHA erhöht werden, aber die Lipidtoleranz war auf 3,5 g/kg/Tag Lipide erniedrigt [133].

Von großer Bedeutung ist es dabei meines Erachtens auch, die Langzeitauswirkungen einer „aggressiven“ Ernährung hinsichtlich einer metabolischen Programmierung bei den ehemals sehr kleinen Frühgeborenen zu untersuchen. Dazu sind Nachuntersuchungen über 10 bis 25 Jahre notwendig. Zu dieser Fragestellung gibt es aktuell interessante Ansätze:

- Es konnte gezeigt werden, dass die Unreife mit einer später erniedrigten Insulinsensitivität korreliert ist, wobei die zeitliche Abfolge dieser Prozesse noch unklar ist [134].
- In der Follow-up-Studie der „Newcastle preterm birth growth study“ ist eine Nachuntersuchung von 247 Frühgeborenen zu Faktoren der metabolischen Programmierung mit Messung von DXA, Blutdruck, Insulinresistenz, Lipidprofil im Blut und Korrelation mit der Ernährung und der körperlichen Aktivität im Alter von 9-10 Jahren geplant [135].

Neue randomisierte Studien werden es ermöglichen, die Empfehlungen zur parenteralen und enteralen Ernährung zu konkretisieren und mit weiteren Daten zu untermauern.

5. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeiten war es, die Ernährung von sehr unreifen Frühgeborenen zu analysieren und Wege zu ihrer Verbesserung zu prüfen. Folgende Ergebnisse konnten erarbeitet werden:

- In Bilanzstudien bei Frühgeborenen < 1000 g Geburtsgewicht fanden wir eine zu niedrige Aufnahme von Zink, Kalzium und Phosphat über die Muttermilch. Absorption und Retention von Zink variierten erheblich, die Retention war mit einer Ausnahme bei allen Patienten negativ. Die Kalziumretention war zumeist negativ oder niedrig, während die Phosphat- und Magnesiumbilanzen niedrig, aber selten negativ waren. Auch bei niedriger Aufnahme wurde Selen zu 77 % absorbiert.
- In einer randomisierten Studie wurden unterschiedliche Mengen an Kalzium, Phosphat, Protein und Spurenelementen zugeführt. Die Zufuhr war insgesamt nicht ausreichend, um einen Zinkmangel und eine Osteopenia prematorum vollständig zu verhindern und das Wachstum zu verbessern.
- In den ersten fünf Lebenswochen waren künstliche Beatmung und Dexamethason-Therapie, als Ausdruck des Schweregrades der Erkrankung der Frühgeborenen, unabhängige Prädiktoren der Gewichtszunahme.
- Für 209 Frühgeborene < 1000 g konnten Perzentilen der Konzentrationen von Spurenelementen und antioxidativen Enzymen im Blut am 3. Lebenstag als „Normwerte“ erstellt werden. Niedrige Konzentrationen der Spurenelemente beeinflussten nicht die Aktivitäten der antioxidativen Enzyme. BPD, IVH, NEC und ROP waren nicht mit erniedrigten Aktivitäten der antioxidativen Enzyme verbunden.
- Die Ernährung mit einer höheren Proteinmenge in den ersten fünf Lebenswochen führte zu einem Wachstum entsprechend den intrauterinen Werten. Die Proteinaufnahme korrelierte mit der Gewichtszunahme. Die zusätzliche Anreicherung der Muttermilch mit einem Proteinpulver war wichtig, um die Zielparameter der Empfehlungen für die enterale Ernährung zu erreichen.

In den letzten 15 Jahren hat eine deutliche Veränderung in der Ernährung von Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g stattgefunden, die sich auch in dieser Habilitationsschrift zeigt. Unsere ersten Studien zeigten, dass der Bedarf der Frühgeborenen nicht adäquat gedeckt werden konnte. Im Weiteren konnte ihre Ernährung besser an ihre sehr speziellen Bedürfnisse angepasst werden. Das ist bedeutsam, um ein adäquates Wachstum, eine geringere Morbidität und eine gute spätere neurologische Entwicklung zu erreichen.

6. Literaturverzeichnis

1. Budin P. The nursling: the feeding and hygiene of premature and full-term infants (translated by W.J. Maloney). Caxton Publishing Co., London, UK.
2. Hess JH. Premature and congenitally diseased infants. Lea & Febiger, Philadelphia, PA, pp. 107- 204, 1922.
3. Greer FR. Feeding the premature infant in the 20th century. J Nutr 2001; 131: 426S- 430S.
4. Gordon HH, Levine SZ, Deamer WC, McNamara H. Respiratory metabolism in infancy and childhood. XXIII. Daily energy requirements of premature infants. Am Dis Child 1940; 59: 1185- 1202.
5. Lundeen E, Kunstadter RH. Care of the premature infant. JB. Lippincott, Philadelphia, PA, pp. 87- 154, 1958.
6. Kagan B., Stanicova V, Felix NS, Hodgman J, Kalman D. Body composition of the premature infant: relation to nutrition. Am J Clin Nutr 1972; 25: 1153- 1164.
7. Raiha NC, Heinonen K, Rassin DK, Gaul GE. Milk protein quantity and quality in low-birthweight infants, I: metabolic responses and effects on growth. Pediatrics 1976; 57: 659- 684.
8. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Desci T et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: Commentary from the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition, Committee on Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010; 50: 85- 91.
9. Nutrition Committee, Canadian Paediatric Society. Nutrient needs and feeding of premature infants. Can Med Assoc J 1995; 152: 1765- 85.
10. Tsang RC, Uauy R, Koletzko B, Zlotkin SH, editors. Nutrition of the preterm infant-scientific basis and practical guidelines. 2nd edition. Cincinnati, Ohio: Digital Educational Publishing Inc.; 2005.

11. Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatrics* 2013; 13: 59- 72.
12. Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: 50 years later. *J Trace Elem Med Biol* 2012; 26: 66- 69.
13. Ibs K-H, Rink L. Zinc-altered immune function. *J Nutr* 2003; 133: 1452S- 1456S.
14. Isumara N, Inamo Y, Okazaki F, Teranishi F, Narita H, Kambe T et al. Compound heterozygous mutations in *SLC30A2/ZnT2* results in low milk zinc concentrations: novel mechanism for zinc deficiency in a breast-fed infant. *PLoS ONE* 8 (5): e64045, doi:10.1371/ journal.pone.0064045. Print 2013.
15. Krebs NF. Update on zinc deficiency and excess in clinical pediatric practise. *Ann Nutr Metab* 2013; 62: 19- 29.
16. Obladen M, Loui A, Kampmann W, Renz H. Zinc deficiency in rapidly growing preterm infants. *Acta Pediatr* 1998; 87: 685- 691.
17. Kharfi M, Fekih N, Aounallah- Skhiri H, Schmitt S, Fazaa B, Kury S, Kamoun MR. Acrodermatitis enteropathica: a review of 29 Tunisian cases. *Int J Dermatol* 2010; 49: 1038- 1044.
18. Rao R, Georgieff M. Microminerals. In: Tsang RC, Uauy R, Koletzko B, Zlotkin SH, editors. *Nutrition of the preterm infant- scientific basis and practical guidelines*. 2nd edition. Cincinnati, Ohio: Digital Educational Publishing Inc.; 2005, pp 277- 310.
19. Miller LV, Krebs NF, Hambidge KM. A mathematical model of zinc absorption in humans as a function of dietary zinc and phytate. *J Nutr* 2007; 137: 135- 141.
20. Kodama H, Fujisawa C, Bhadhprasit W. Inherited copper transport disorders: Biochemical mechanisms, diagnosis, and treatment. *Curr Drug Metabol* 2012; 13: 237- 250.
21. Shike M. Copper in parenteral nutrition. *Gastroenterol* 2009; 137: S13- S 17.

22. Oestreich AE, Cole CR. Vigorous periosteal reaction secondary to copper deficiency in an infant on total parenteral nutrition. *Pediatr Radiol* 2013; 43: 1411- 1413.
23. Dembinski K, Gargasz AE, Dabrow S, and Rodriguez L. Three distinct cases of copper deficiency in hospitalized pediatric patients. *Clin Pediatr* 2012; 51: 759-762.
24. Körle J. Pathophysiological relevance of selenium. *J Endocrinol Invest* 2013; 36: 1- 7.
25. Sigel A, Sigel H, Sigel RKO (eds.), Interrelations between essential metal ions and human diseases, *Metal Ions in Life Sciences* 13, DOI 10.1007/978-94-007-7500-8_16, Springer+ Business Media Dordrecht 2013.
26. Roman M, Jitaru P, Barbante C. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics* 2014; 6: 25- 54.
27. Mentro AM, Smith AM, Moyer- Mileur L. Plasma and erythrocyte selenium and glutathione peroxidase activity in preterm infants at risk for bronchopulmonary dysplasia. *Biol Trace Elem Res* 2005; 106: 97- 106.
28. Schweizer U, Dehina N, Schomburg L. Disorders of selenium metabolism and selenoprotein function. *Current Opinion in Pediatrics* 2011; 23: 429- 435.
29. Al-Matary A, Hussain M, Ali J. Selenium: a brief review and a case report of selenium responsive cardiomyopathy. *Pediatrics* 2013; 13: 39- 45.
30. Masumoto K, Nagata K, Higashi M, Nakatsuji T, Uesugi T, Takashashi Y et al. Clinical features of selenium deficiency in infants receiving long-term nutritional support. *Nutrition* 2007; 23: 782- 787.
31. Bhatia J, Griffin I, Anderson D, Kler N, Domellöf M. Selected macro/ micronutrient needs of the routine preterm infant. *J Pediatr* 2013; 162: S48- 55.
32. Domellöf M, Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Fewtrell M et al. Iron requirements of infants and toddlers: a position paper by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 119- 129.

33. Hirano K, Morinobu T, Kim H, Hiroi M, Ban R, Ogawa S et al. Blood transfusion increases radical promoting non-transferrin bound iron in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2001; 84: F188- F 193.
34. Collard KJ. Is there a causal relationship between the receipt of blood transfusions and the development of chronic lung disease. *Medical Hypotheses* 2006; 66: 355-364.
35. Friel JK, Aziz K, Andrews WL, Serfass RE. Iron absorption and oxidant stress during erythropoietin therapy in very low birth weight premature infants: a short study. *BMC Pediatrics* 2005; 5: 29- 35.
36. Maltepe E, Saugstad OD. Oxygen in health and disease: regulation of oxygen homeostasis – clinical implications. *Pediatr Res* 2009; 65: 261- 268.
37. Perrone S, Tataranno ML, Negro S, Longini M, Marzocchi B, Proietti F et al. Early identification of the risk for free radical- related diseases in preterm newborns. *Early Hum Dev* 2010; 86: 241- 244.
38. Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia – oxidative stress and antioxidants. *Sem Neonatol* 2003; 8:39- 49.
39. Gusti B, Vestrini A, Poggi C, Magi A, Pasquini E, Abbate Ret al. Genetic polymorphisms of antioxidant enzymes as risk factors for oxidative stress-associated complications in preterm infants. *Free Radical Research* 2012; 46: 1130- 1139.
40. Abrams S and the Committee on Nutrition. Calcium and vitamin D requirements of enterally fed preterm infants. *Pediatrics* 2013; 131: e 1676- e 1683.
41. Trotter A, Pohlandt F. Calcium and phosphorus retention in extremely preterm infants supplemented individually. *Acta Paediatrica* 2002; 91: 680- 683.
42. Lothe A, Sinn J, Stone M. Metabolic bone disease of prematurity and secondary hyperparathyroidism. *J Pediatr Child Health* 2011; 47: 550- 553.

43. Jee WSS. The past, present, and future of bone morphometry: its contribution to an improved understanding of bone biology. *J Bone Miner Metab* 2005; 23 (Suppl): 1-10.
44. Ziegler EE, O'Donell A, Nelson SE and Fomon SJ. Body composition of the reference fetus. *Growth* 1976; 40: 329- 341.
45. Ellis KJ, Shypailo RJ, Pratt JA and Pond WG. Accuracy of dual-energy x-ray absorptiometry for body-composition measurements in children. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 660- 665.
46. Koo WWK, Walters J, Bushe AJ, Chesney RW, Carlson SE. Dual energy x-ray absorptiometry studies of bone mineral status in newborn infants. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 997- 1002.
47. Ramel SE, Gray HL, Davern BA, Demerath EW. Body composition at birth in preterm infants between 30 and 36 weeks gestation. *Pediatr Obes* 2014; Jan 27. Doi:10.1111/j.2047- 6310.2013.00215.x. [Epub ahead of print]
48. Rigo J, Nyamugabo K, Picaud JC, Gerard P, Pieltain C, De Curtis M. Reference values of body composition obtained by dual energy X-ray absorptiometry in preterm and term neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 27: 184- 190.
49. Rigo J. Protein, amino acid and other nitrogen compounds. In: Tsang RC, Uauy R, Koletzko B, Zlotkin SH, editors. *Nutrition of the preterm infant- scientific basis and practical guidelines*. 2nd edition. Cincinnati, Ohio: Digital Educational Publishing Inc.; 2005.
50. Kuschel CA, Harding JE. Protein supplementation of human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database of Systemic Reviews* 2000; Issue 2. Art.No.: CD000433; DOI:10.1002/ 14651858.CD000433.
51. Carlson SJ, Johnson KJ, Cress GA, Connolly NW, Ziegler EE. Higher protein intake improves growth of VLBW infants fed fortified breast milk. *Pediatr Res* 1999; 45: 278A.

52. Reis BB, Hall RT, Schanler RJ, Berseth CL, Chan G, Ernst JA et al. Enhanced growth of preterm infants fed a new powdered human milk fortifier: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2000; 106: 581- 588.
53. Arslanoglu S, Moro G, Ziegler E. Adjustable fortification of human milk fed to preterm infants: does it make a difference? *J Perinatol* 2006; 26: 614- 621.
54. Moyses HE, Johnson MJ, Leaf AA, Cornelius VR. Early parenteral nutrition and growth outcomes in preterm infants: a systemic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2013; 97: 816- 826.
55. Loui A, Raab A, Obladen M, Brätter P. Nutritional zinc balance in extremely low birthweight infants. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2001; 32: 438- 42.
56. Loui A, Raab A, Obladen M, Brätter P. Calcium, phosphorus and magnesium balance: FM 85 fortification of human milk does not meet mineral needs of extremely low birthweight infants. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 228- 235.
57. Loui A, Raab A, Wagner M, Weigel H, Grüters-Kieslich A, Brätter P, Obladen M. Nutrition of very low-birth-weight infants with human milk fortified with and without trace elements: A randomized controlled trial. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2004; 39: 346- 353.
58. Loui A, Raab A, Brätter P, Obladen M, de Brätter VN. Selenium status in term and preterm infants during the first months of life. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 349- 355.
59. Loui A, Tsalikaki E, Maier K, Walch E, Kamarianakis Y, Obladen M. Growth in High risk infants < 1500 g birthweight during the first 5 weeks. *Early Hum Dev* 2008; 84: 645- 650.
60. Loui A, Raab A, Maier RF, Brätter P, Obladen M. Trace elements and Antioxidant enzymes in infants below 1000 g. *J Trace Elem Med Biol* 2010; 24: 111- 118.
61. Loui A, Bühner C. Growth of very low birth weight infants after increased amino acid and protein administration. *J Perinatal Med* 2013; 41: 735- 741.

62. Houtzager BA, Gorter- Overdiek B, van Sonderen L, Tamminga P, van Wassenaer AG. Improvement of developmental outcome between 24 and 36 months corrected age in very preterm infants. *Acta Paediatr* 2010; 99: 1801-1806.
63. Doyle LW, Roberts G, Anderson PJ; the Victorian Infant Collaborative Study Group. Changing long-term outcomes for infants 500- 999 g birth weight in Victoria, 1979- 2005. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2011; 96: F 443- F 447.
64. Senterre T, Rigo J. Reduction in postnatal cumulative nutritional deficit and improvement of growth in extremely preterm infants. *Acta Paediatrica* 2012; 101: e 64- e70.
65. Higashi A, Ikeda T, Iribe K, Matsuda I. Zinc balance in preterm infants given the minimal dietary zinc requirement. *J Pediatr* 1988; 112: 262- 266.
66. Schanler RJ, Shulman RJ, Lau C. Feeding strategies for premature infants: beneficial outcomes of feeding fortified human milk versus preterm formula. *Pediatrics* 1999; 103: 1150- 1157.
67. Wastney ME, Angelus PA, Barnes RM, Subramanian KNS. Zinc absorption, distribution, excretion, and retention by healthy preterm infants. *Pediatr Res* 1999; 45: 191- 196.
68. Knudsen E, Jensen M, Solgaard P, Sørensen SS, Sandström B. Zinc absorption estimated by fecal monitoring of zinc stable isotopes validated by comparison with whole-body retention of zinc radioisotopes in humans. *J Nutr* 1995; 125: 1274- 1282.
69. Ehrenkranz RA, Gettner PA, Nelli CM, Sherwonit EA, Williams JE, Ting BTG, Janghorbani M. Selenium absorption and retention by very-low-birth-weight infants: studies with the extrinsic stable isotope tag ⁷⁴ Se. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 13: 125- 133.
70. Strambi M, Longini M, Vezzosi P, Berni S, Buoni S. Selenium status, birth weight, and breast-feeding. *Biol Trace Elem Res* 2004; 99: 71- 81.

71. Ghavour- Mobarhan M, Taylor A, New SA, Lamb DJ, Ferns GAA. Determinants of serum copper, zinc and selenium in healthy subjects. *Ann Clin Biochem* 2005; 42: 364- 375.
72. Makhoul IR, Sammour RN, Diamond E, Shohat I, Tamir A, Shamir R. Selenium concentrations in maternal and umbilical cord blood at 24- 42 weeks of gestation: basis for optimization of selenium supplementation to premature infants. *Clin Nutr* 2004; 23: 373- 381.
73. Gallinier A, Périquet B, Lambert W, Garcia Jésus, Assouline C, Rolland M, Thouvenot JP. Reference range for micronutrients and nutritional marker proteins in cord blood of neonates appropriated for gestational ages. *Early Hum Dev* 2005; 81: 583- 593.
74. Itabashi K, Saito T, Ogawa Y, Uetani Y. Incidence and predicting factors of hypozincaemia in very-low-birth-weight infants at near-term postmenstrual age. *Biol Neonate* 2003; 83: 235- 240.
75. Candlish JK, Tho LL, Lee HW. Erythrocyte enzymes decomposing reactive oxygen species and gestational age. *Early Hum Dev* 1995; 43: 145- 150.
76. Oshiro M, Mimura S, Hayakawa M, Watanabe K. Plasma and erythrocyte levels of trace elements and related antioxidant enzyme activities in low-birthweight infants during the early postnatal period. *Acta Paediatr* 2001; 90: 1283- 1287.
77. Falciglia HS, Johnson R, Sullivan J, Hall CF, Miller JD, Riechmann GC, Falciglia GA. Role of antioxidant nutrients and lipid peroxidation in premature infants with respiratory distress syndrome and bronchopulmonary dysplasia. *Am J Perinatol* 2003; 20: 97- 107.
78. Akisu M, Tuzun S, Arslanoglu S, Yalaz M, Kultursay N. Effect of recombinant human erythropoietin administration on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in preterm infants. *Acta Med Okayama* 2001; 55: 357- 362.
79. Fu RH, Yang PH, Ching MC, Chiang CC, Cho YH, Chou YH. Erythrocyte Cu/ Zn superoxide dismutase activity in preterm infants with and without broncho-pulmonary dysplasia. *Biol Neonate* 2005; 88: 35- 41.

80. Silvers KM, Gibson AT, Russell JM, Powers HJ. Antioxidant activity, packed cell transfusions, and outcome in premature infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 78: F214- F219.
81. Raab A, Brätter P. Speziation von Metalloenzymen im Cytosol von Erythrozyten. In: Reichmayr- Lais AM, Windisch W (eds.). *Spurenelemente- Nutritive metabolische und pharmakologische Aspekte der Versorgung mit Spurenelementen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH: Stuttgart; 2001, pp. 51- 62.
82. Daniels L, Gibson R, Simmer K. Selenium status of preterm infants: the effect of postnatal age and method of feeding. *Acta Paediatr* 1997; 86: 281- 288.
83. European Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition, Committee on Nutrition of the Preterm Infant. Nutrition and feeding of preterm infants. *Acta Pædiatr Scand Suppl* 1987; 336: 1- 14.
84. Ehrenkranz RA, Gettner PA, Nelli CM. Nutrient balance studies in premature infants fed premature formula or fortified preterm human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 8: 58- 67.
85. Schanler RJ, Abrams SA. Postnatal attainment of intrauterine macromineral accretion rates in low birth weight infants fed fortified human milk. *J Pediatr* 1995; 126: 441- 447.
86. Bronner F, Salle BL, Putet G, Rigo J, Senterre J. Net calcium absorption in premature infants: results of 103 metabolic balance studies. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 1037- 1044.
87. Raschko PK, Hiller JL, Benda GI, Buist NRM, Wilcox K, Reynolds JW. Nutritional balance studies of VLBW infants fed their mothers' milk fortified with a liquid human milk fortifier. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 9: 212- 218.
88. Moyer- Mileur L, Chan GM, Gill G. Evaluation of liquid or powdered fortification of human milk on growth and bone mineralization status of preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992; 15: 370- 374.

89. Hicks PD, Rogers SP, Hawthorne KM, Chen Z, Abrams SA. Calcium absorption in very low birth weight infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 2011; 158: 885- 890.
90. Lucas A, Brooke OG, Baker BA, Bishop N, Lister G, Bishop NJ. High alkaline phosphatase activity and growth in preterm infants. *Arch Dis Child* 1989; 64: 902- 909.
91. Mitchell SM, Rogers SP, Hicks PD, Hawthorne KM, Parker BR, Abrams PD. High frequencies of elevated alkaline phosphatase activity and rickets in extremely low birth weight infants despite current nutritional support. *BMC Pediatr* 2009; 9: 47- 54.
92. Sankaran K, Papageorgiou A, Ninan A, Sankaran R. A randomized, controlled evaluation of two commercially available human breast milk fortifiers in healthy preterm neonates. *J Am Diet Assoc* 1996; 96: 1145- 1149.
93. Wauben IP, Atkinson SA, Grad TL, Shah JK, Paes B. Moderate nutrient supplementation of mother's milk for preterm infants supports adequate bone mass and short-term growth: a randomized, controlled trial. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 465- 472.
94. Zarnardo V, Dani C, Trevisanuto D, Meneghetti S, Guglielmi A, Zacchello G et al. Methylxanthines increase renal calcium excretion in preterm infants. *Biol Neonate* 1995; 68: 169- 174.
95. Campfield T, Braden G, Flynn-Valone P, Powell S. Effect of diuretics on urinary oxalate, calcium, and sodium excretion in very low birth weight infants. *Pediatrics* 1997; 99: 814- 818.
96. Backström MC, Kouri T, Kuusela A-L, Sievänen H, Koivisto A-M, Ikonen RS et al. Bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase and serum inorganic phosphate in metabolic bone disease of prematurity. *Acta Pædiatr* 2000; 89: 867- 873.

97. Rauch F, Schoenau E. Skeletal development in premature infants: a review of bone physiology beyond nutritional aspects. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 86: F82- F85.
98. Lapillone AA, Glorieux FH, Salle B, Braillon PM, Chambon M, Rigo J et al. Mineral balance and whole body bone mineral content in very low birth weight infants. *Acta Pædiatr Suppl* 1994; 405: 117- 122.
99. Fewtrell MS, Prentice A, Jones SC, Bishop NJ, Stirling D, Buffenstein R et al. Bone mineralization and turnover in preterm infants at 8- 12 years of age: the effect of early diet. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 810- 820.
100. Costa- Orvay JA, Figueras- Aloy J, Romera G, Closa- Monasterolo R, Carbonell- Estrany X. The effect of varying protein and energy intakes on the growth and body composition of very low birth weight infants. *Nutritional Journal* 2011; 10: 140- 8.
101. Brumberg HL, Kowalski L, Troxell-Dorgan A, Gettner P, Konstantino M, Poulsen JF et al. Randomized trial of enteral protein and energy supplementation in infants less than or equal to 1250 g at birth. *J Perinatol* 2010; 30: 517- 21.
102. Ibrahim HM, Jeroudi MA, Baier RJ, Dhanireddy R, Krouskop R. Aggressive early total parenteral nutrition in low-birth-weight infants. *J Perinatol* 2004; 24: 482- 486.
103. Thureen PJ, Melara D, Fennessey PV, Hay WW. Effect of low versus high intravenous amino acid intake on very low birth weight infants in the early neonatal period. *Pediatr Res* 2003; 53: 24-32.
104. Weber A, Loui A, Jochum F, Bühner C, Obladen M. Breast milk from mothers of very low birthweight infants: variability in fat and protein content. *Acta Pædiatr* 2001; 90: 772- 775.
105. De Halleux V, Rigo J. Variability in human milk composition: benefit of individual fortification in very-low-birth-weight infants. *Am J Clin Nutr* 2013; 98 (Suppl): 529S- 535S.

106. Corvaglia L, Aceti A, Paoletti V, Mariani E, Patrono D, Ancora G, et al. Standard fortification of preterm human milk fails to meet recommended protein intake: bedside evaluation by near-infrared-reflectance-analysis. *Early Hum Dev* 2010; 86: 237- 240.
107. Maas C, Wiechers C, Bernhard W, Poets CF, Franz AR. Early feeding of fortified breast milk and in-hospital-growth in very premature infants: a retrospective cohort analysis. *BMC Pediatrics* 2013; 13: 178- 181.
108. Cooper AR, Barnett D, Gentles E, Cairns L, Simpson JH. Macronutrient content of donor human breast milk. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013; 98: F539- F541.
109. Reali A, Greco F, Fanaro S, Atzei A, Puddu M, Moi M et al. Fortification of maternal milk for very low birth weight (VLBW) pre- term neonates. *Early Hum Dev* 2010; 86: S33- S36.
110. Arslanoglu S, Bertino E, Coscia A, Tonetto P, Giuliani F, Moro GE. Update of adjustable fortification regimen for preterm infants: a new protocol. *J Biol Regulators & Agents* 2012; 26: 65- 67.
111. Rochow N, Fusch G, Choi A, Chessel L, Elliott LA, McDonald K et al. Target fortification of breast milk with fat, protein, and carbohydrates for preterm infants. *J Pediatr* 2013; 163: 1001- 1007.
112. Fenton TR, Premij SS, Al-Wassia H, Sauve RS. Higher versus lower protein intake in formula-fed low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2014 Apr 21; 4: CD003959.doi: 10.1002/14651858.CD003959.pub3.
113. Moltu SJ, Blakstad EW, Strømmen K, Almaas AN, Nakstad B, Rønnestad A, et al. Enhanced feeding and diminished postnatal growth failure in very- low-birth-weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 344- 351.
114. Olsen IE, Harris CL, Lawson ML, and Berseth CL. Higher protein intake improves length, not weight, z scores in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 409- 416.

115. Burattini I, Bellagamba MP, Spagnoli C, D'Ascenzo R, Mazzoni N, Peretti A, et al. Targeting 2.5 versus 4 g/kg/day of amino acids for extremely low birth weight infants: a randomized clinical trial. *J Pediatr* 2013; 163: 1278- 1282.
116. Clark R, Thomas P, Peabody J. Extrauterine growth restriction remains a serious problem in prematurely born neonates. *Pediatrics* 2003; 111: 986- 990.
117. Dusick AM, Poindexter BB, Ehrenkranz RA, Lemons JA. Growth failure in the preterm infant: can we catch up? *Sem Perinatol* 2003; 27: 302- 310.
118. Shlomai NO, Reichman B, Lerner- Geva L, Boyko V, Bar- Oz B. Population-based study shows improved postnatal growth in preterm very-low-birthweight infants between 1995 and 2010. *Acta Pædiatr* 2014; 103: 498- 503.
119. Blanco CL, Gong AK, Schoolfield J, Green BK, Daniels W, Liechty EA, Ramamurthy R. Impact of early and high amino acid supplementation on ELBW infants at 2 years. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 601- 607.
120. Cormack BE, Bloomfield FH, Dezoete A, Kuschel CA. Does more protein in the first week of life change outcomes for very low birthweight babies? *J Pediatr Child Health* 2011; 47: 898- 903.
121. Stephens BE, Walden RV, Gargus RA, Tucker R, McKinley L, Mance M, Nye J, Vohr BR. First-week protein and energy intakes are associated with 18-month developmental outcomes in extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2009; 123: 1337- 1343.
122. Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, McKinley LT, Higgins RD, Langer JC et al. Persistent beneficial effects of breast milk ingested in the Neonatal Intensive Care Unit on outcomes of extremely low birth weight infants at 30 months of age. *Pediatrics* 2007; 120: 4: e953- e959.
123. Singer LT. Randomized clinical trials in infancy: methodologic issues. *Semin Neonatol* 2001; 6: 393- 401.

124. Sergejev E, Gebauer C, Knüpfer M, Pulzer F, Robel-Tillig E. Enteral feeding volume advancement by using a standardized nutritional regimen in preterm infants \leq 1750 g birth weight: a controlled randomized trial. *Klin Pædiatr* 2011; 223: 15- 21.
125. Roggero P, Gianni ML, Orsi A, Amato O, Piemontese P, Liotto N et al. Implementation of nutritional strategies decreases postnatal growth restriction in preterm infants. *PLoS ONE* 2012; 7(12): e51166. Doi:10.1371/journal.pone.0051166.
126. Loomis T, Byham-Gray L, Ziegler J, Parrott JS. The impact of standardized feeding guidelines on enteral nutrition administration, growth outcomes, metabolic bone disease and cholestasis in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 59: 93- 98.
127. Morgan J, Young L, McGuire W. Delayed introduction of progressive enteral feeds to prevent necrotising enterocolitis in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; May 31; 5: CD001970. doi: 10.1002/14651858.CD001970. pub4.
128. Mihatsch WA, von Schoenaich P, Fahnenstich H, Dehne N, Ebbecke H, Plath C et al. The significance of gastric residuals in the early enteral feeding advancement of extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2002; 109: 457- 459.
129. Ergenekon E, Soysal S, Hirfanoğlu I, Baş V, Gücüyener K, Turan Ö, et al. Short- and longterm effects of individualized enteral protein supplementation in preterm newborns. *Turkish J Pediatr* 2013; 55: 365- 370.
130. Manzoni P, Stolfi I, Pedicino R, Vagnarelli F, Mosca F, Pagni L et al. Human milk feeding prevents retinopathy of prematurity (ROP) in preterm VLBW neonates. *Early Hum Dev* 2013; 89, S1: S64- S68.

131. VanderVeen DK, Martin CR, Mehendale R, Allred EN, Dammann O, Leviton A, et al. Early nutrition and weight gain in preterm newborns and the risk of retinopathy of prematurity. *PLoS ONE* 2013; 8 (5): e64325. doi:10.1371/journal.pone.0064325.
132. Beken S, Dilli D, Fettah ND, Kabataş EU, Zenciroğlu A, Okumuş N. The influence of fish-oil lipid emulsions on retinopathy of prematurity in very low birth weight infants: a randomized controlled trial. *Early Hum Dev* 2014; 90: 27- 31.
133. D' Ascenzo R, Savini S, Biagetti C, Bellagamba MP, Marchionni P, Pompilio A, et al. Higher docosahexaenoic acid, lower arachidonic acid and reduced lipid tolerance with higher doses of a lipid emulsion containing 15% fish oil: a randomized clinical trial. *Clin Nutr* 2014; 33: 1002- 1009.
134. Tinnion R, Gillone J, Cheetham T, Embleton N. Preterm birth and subsequent insulin sensitivity: a systemic review. *Arch Dis Child* 2014; 99: 362- 368.
135. Wood CL, Tinnion RJ, Korada SM, Cheetham TD, Relton CL, Cooke RJ, et al. Growth and metabolic outcome in adolescents born preterm (GROWMORE): follow-up protocol for the Newcastle preterm birth growth study (PTBGS). *BMC Pediatrics* 2013; 13: 213- 224.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem langjährigem Lehrer und Chef, Herrn Prof. Dr. Michael Obladen. Unter seiner Leitung vertiefte ich die Methodik des wissenschaftlichen Arbeitens und lernte klinisches Handeln auf der Basis fundierter wissenschaftlicher Erkenntnisse. Seine Unterstützung und Motivierung hat es mir ermöglicht, neben der klinischen Tätigkeit auch wissenschaftlich zu arbeiten.

Herrn Prof. Christoph Bühner danke ich sehr für die wissenschaftliche Betreuung dieser Arbeit in den letzten Jahren. Die klinischen Studien der letzten Jahre wurden unter seiner Leitung und wissenschaftlichen Beratung durchgeführt.

Besonders danken möchte ich Frau Andrea Raab und Herrn Prof. Peter Brätter vom Hahn-Meitner-Institut Berlin, Abteilung für Spurenelementforschung. In enger Kooperation mit Ihnen sind eine Reihe von Studien zum Thema Spurenelemente und antioxidative Enzyme bei unreifen Frühgeborenen durchgeführt worden. Diese gemeinsame Forschungsarbeit war über Jahre sehr intensiv und hat mir viele Impulse gegeben.

Weiterhin bedanken möchte ich mich bei allen ehemaligen und heutigen Kollegen unserer Klinik, die mich in meiner Forschungsarbeit unterstützten. Nennen möchte ich besonders PD Dr. Petra Koehne, Dr. Ann-Carolin Longardt, Prof. Rolf Maier und Boris Metze.

Mein besonderer Dank gilt auch den Schwestern der neonatologischen Intensivstationen, ohne deren tatkräftige Unterstützung die klinischen Studien nicht möglich gewesen wären.

Diese Habilitationsschrift konnte nur durch die Kooperation aller Koautoren der einzelnen Veröffentlichungen entstehen. Ihnen sei nochmals auf diesem Wege ausdrücklich gedankt.

Mein besonderer Dank gilt meinem Lebensgefährten Nico, der mir stets großen Rückhalt bei meiner klinischen Tätigkeit gibt und mir den erforderlichen Freiraum für meine wissenschaftlichen Aktivitäten einräumt. Für sein großes Verständnis, seine Geduld und Zuwendung danke ich ihm von ganzem Herzen.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebene Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....

Datum

.....

Unterschrift