

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie,
Hepatology und Endokrinologie der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Bestimmung der Fettsäurenprofile
(insbesondere der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren)
im Serum und in den Erythrozytenmembranen
bei erwachsenen Patienten mit Phenylketonurie
im Vergleich zu Stoffwechselgesunden;
Untersuchung zum Risiko frühzeitiger Blutgefäßveränderungen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Nadine Mönch
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. B. Wiedenmann

2. Prof. Dr. med. T. Deufel

3. Prof. Dr. med. B. Koletzko

Datum der Promotion: 26.01.2009

In Liebe meiner Mutter

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|--|-----------|
| 1 EINLEITUNG | 6 |
| 1.1 PHENYLKETONURIE (PKU) | 7 |
| 1.1.1 Krankheitsbild PKU..... | 7 |
| 1.1.2 Einteilung und Pathophysiologie..... | 7 |
| 1.1.3 Ernährung..... | 9 |
| 1.2 FETTSÄUREN | 10 |
| 1.2.1 Definition..... | 10 |
| 1.2.2 Allgemeine Systematik..... | 10 |
| 1.3 STOFFWECHSEL VON OMEGA-3- UND OMEGA-6-FETTSÄUREN UND SYNTHESE DER EICOSANOIDE | 11 |
| 1.4 MANGELERSCHEINUNGEN UND BEDARF DER OMEGA-3- UND OMEGA-6-FETTSÄUREN | 14 |
| 1.4.1 Mangelerscheinungen..... | 14 |
| 1.4.2 Bedarf | 14 |
| 1.5 BEDEUTUNG DER OMEGA-3-FETTSÄUREN IM KARDIOVASKULÄREN SYSTEM | 15 |
| 1.5.1 Klinische Relevanz im kardiovaskulären System..... | 15 |
| 1.5.2 Mechanismen der protektiven Wirkung der Omega-3-Fettsäuren im kardiovaskulären System..... | 17 |
| 1.5.3 Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf Mechanismen am Endothel der Gefäße..... | 18 |
| 1.5.4 Effekte in der Blutrheologie..... | 19 |
| 1.5.5 Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf Mechanismen im Lipoproteinstoffwechsel..... | 19 |
| 1.5.6 Auswirkungen auf den Blutdruck..... | 20 |
| 1.6 ZIELE DER VORLIEGENDEN ARBEIT | 20 |
| 2 MATERIAL UND METHODEN | 22 |
| 2.1 STUDIENDESIGN | 22 |
| 2.1.1 Allgemein..... | 22 |
| 2.1.2 Anamnese und klinische Untersuchung | 23 |
| 2.1.3 Ablauf..... | 23 |
| 2.1.4 Laborparameter..... | 24 |
| 2.1.5 Bestimmung der Fettsäuren..... | 24 |
| 2.2 AUFARBEITUNG DER PROBEN | 25 |
| 2.3 ANALYTIK | 26 |
| 2.3.1 Prinzip der Gaschromatographie..... | 26 |
| 2.3.2 Funktionsweise..... | 27 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3.3 Analyse der Proben im GC..... | 28 |
| 2.4 AUSWERTUNG DER ERNÄHRUNGSPROTOKOLLE | 29 |
| 2.5 DATENANALYSE UND STATISTIK..... | 30 |
| 3 RESULTATE..... | 31 |
| 3.1 DESKRIPTIVE DATEN DER GRUPPEN..... | 31 |
| 3.2 BMI, BLUTDRUCK UND ERFASSTE LABORPARAMETER..... | 32 |
| 3.3 Serumanalysen..... | 35 |
| 3.4 Analyse der Erythrozytenmembranen..... | 39 |
| 3.5 Ergebnisse aus den Ernährungsprotokollen | 43 |
| 4 DISKUSSION | 46 |
| 4.1 METHODIK..... | 46 |
| 4.1.1 Untersuchungskollektiv und Studiendesign | 46 |
| 4.1.2 Probenverarbeitung und Analytik..... | 46 |
| 4.1.3 Ernährungsprotokoll..... | 47 |
| 4.2 EINORDNUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE | 47 |
| 4.3 IST DIE ZUSÄTZLICHE SUBSTITUTION MIT MEHRFACH UNGESÄTTIGTEN FETTSÄUREN BEI ERWACHSENEN PKU-PATIENTEN EFFEKTIV? | 53 |
| 5 Zusammenfassung..... | 56 |
| 6 Literaturverzeichnis | 58 |
| 7 Abbildungsverzeichnis | 68 |
| 9 Abkürzungsverzeichnis | 71 |
| 10 Danksagung..... | 73 |
| 11 Lebenslauf..... | 74 |
| Erklärung..... | 75 |

1 EINLEITUNG

Im 21. Jahrhundert begreift die Weltgesundheitsorganisation die Prävention und Behandlung genetischer und seltener Krankheiten als eine zentrale Aufgabe ihrer Bemühungen. Die große Vielfalt von Erkrankungen umfasst unter anderem mehr als 500 angeborene Stoffwechselerkrankungen, die ca. 1 % der Bevölkerung weltweit betreffen. Intensive Forschungen auf diesem Gebiet sollen zu einem besseren Verstehen der Pathophysiologie und in Zukunft zu wesentlichen therapeutischen Fortschritten führen.

Am Beispiel der häufigsten angeborenen Stoffwechselstörung im Aminosäuremetabolismus lässt sich der Fortschritt der medizinischen Forschung in den letzten sieben Jahrzehnten eindrucksvoll nachvollziehen. Nach der ersten Beschreibung der Phenylketonurie (PKU) im Jahre 1934 vergingen nicht ganz 20 Jahre, bis man die effektive Behandlung durch Reduktion der Phenylalaninzufuhr kannte. Das Grundprinzip ist bis heute so geblieben und wurde Ende der 1960er Jahre durch Einführung der synthetischen Aminosäuremischungen deutlich verbessert. Heutiger Stand der Forschung ist, dass die drastische Reduktion an phenylalaninhaltigen Lebensmitteln im Rahmen einer PKU-Diät zu starken Einschränkungen in der Versorgung mit wichtigen Nährstoffen führen kann. So wäre die Folge zum Beispiel die eingeschränkte Zufuhr an essentiellen Fettsäuren oder die unzureichende Aufnahme wichtiger Spurenelemente.

1.1 Phenylketonurie (PKU)

1.1.1 Krankheitsbild PKU

Die Phenylketonurie (PKU) ist ein angeborener Defekt im Stoffwechsel der Aminosäuren, welcher autosomal rezessiv vererbt wird. Etwa jeder Fünzigste Deutsche ist Merkmalsträger der PKU. Der Defekt betrifft das Enzym Phenylalaninhydroxylase (PAH) und damit die Umwandlung von Phenylalanin zu Tyrosin.

Typische klinische Symptome der PKU, wie geistige und statomotorische Retardierung, Krampfleiden, Hyperaktivität, häufiges Erbrechen, erhöhte Neigung zu Seborrhoe und Ekzemen und ein ungewöhnlicher Urin- und Körpergeruch, treten bei unbehandelten Patienten auf (Scriver et al., 2001).

1.1.2 Einteilung und Pathophysiologie

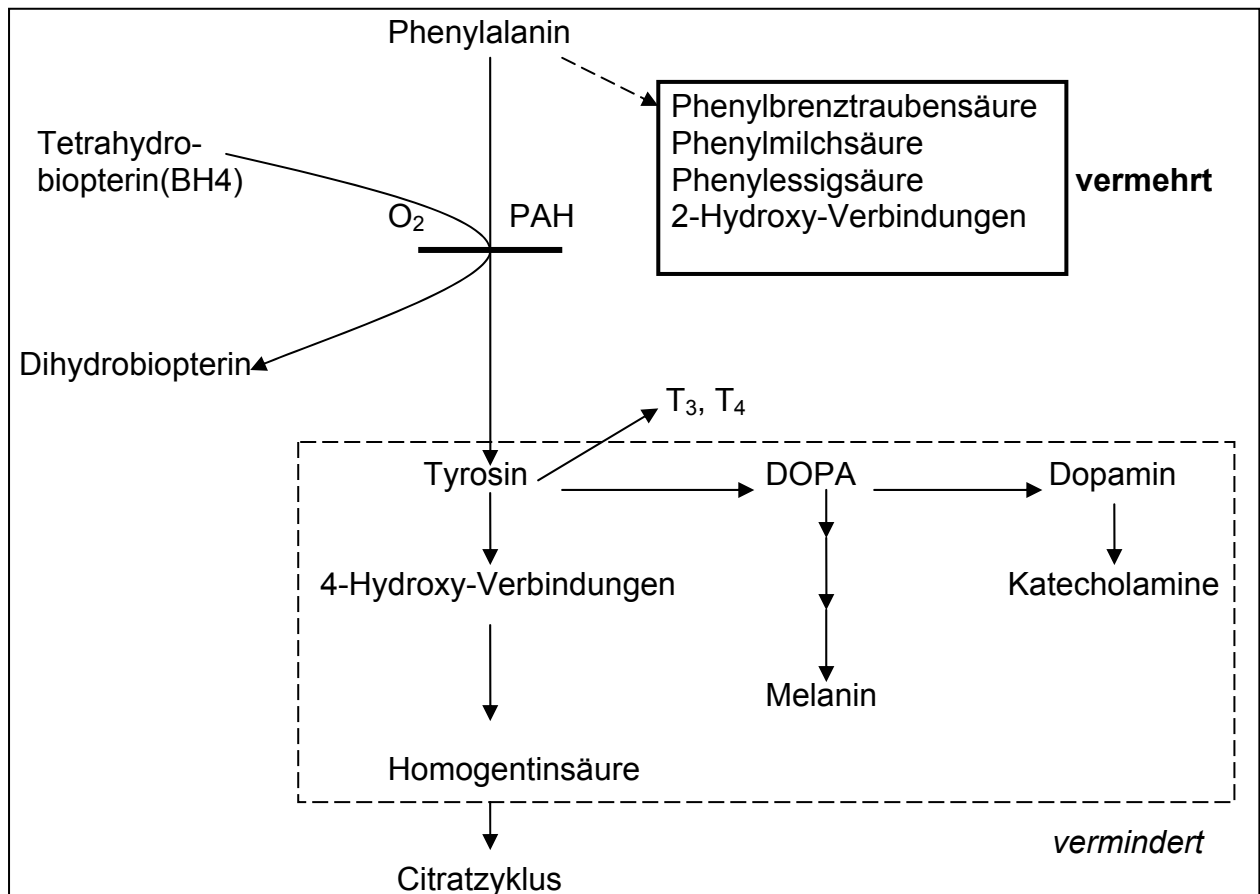
Entsprechend dem Schweregrad der Störung und Erfahrungen wird in Deutschland der Phenylalaninhydroxylasedefekt eingeteilt. Von einer "klassischen PKU" spricht man, wenn die Phenylalanin-Konzentration bei freier Kost über 20 mg/dl und die Phenylalanintoleranz unter 400 mg/d liegt. Die Häufigkeit hierfür liegt in Deutschland etwa bei 1:10.000. Liegt die Phenylalaninkonzentration zwischen 10 und 20 mg/dl und die Phenylalanintoleranz zwischen 400 und 600 mg/dl, wird sie als "Milde PKU" bezeichnet. Als weitere Klasse des PAH-Defektes ist die Hyperphenylalaninämie zu sehen, bei der die Phenylalanin-Konzentration nie über 10 mg/dl liegt.

Eine noch nicht lange bekannte Sonderform ist der Tetrahydrobiopterin (BH₄) - sensible Phenylalaninhydroxylasedefekt. Die maximalen Phenylalanin-Konzentrationen liegen bei dieser Form in der Regel nicht über 20 mg/dl (Scriver et al., 2001).

Phenylalanin ist eine essentielle Aminosäure für den Menschen, die normaler Weise in Tyrosin umgewandelt oder in Eiweiß eingebaut wird. Entsprechend der Restaktivität der Phenylalaninhydroxylase bei PKU-Patienten kann Tyrosin nur in sehr geringen Mengen für den Organismus bereitgestellt werden. Die Folgen für den Organismus können fatal sein, denn aus Tyrosin werden eine ganze Reihe wichtiger Metaboliten gebildet, beispielsweise Neurotransmitter und Katecholamine, Dopamin, Adrenalin und Noradrenalin, aber auch der Pigmentfarbstoff Melanin (Daniel et al., 1976, Medical Research Council Working Party on Phenylketonuria, 1993).

Über alternative Stoffwechselwege werden schädigende Metabolite wie Phenylpyruvat, Phenyllaktat und Phenylazetat gebildet, die im Organismus des PKU-Patienten nachweisbar werden. In der folgenden Abbildung 1 sind die Zusammenhänge graphisch dargestellt:

Abbildung 1: Stoffwechseleränderungen bei unbehandelter PKU



Quelle: modifiziert nach Mönch und Link: Diagnostik und Therapie bei angeborenen Stoffwechselstörungen. SPS Verlagsgesellschaft mbH, Heilbronn, 2002, S. 340

Hohe Phenylalaninkonzentrationen haben vielfältige Auswirkungen auf das Gehirn und die Nervenfasern, nicht nur in der sensiblen Phase der Entwicklung. Die Funktion der Nerven, der Myelinstoffwechsel, die Entwicklung der Gehirnstruktur und die Neurotransmittersynthese sind betroffen (McKean, 1972, Bauman und Kemper, 1982, Huttenlocher, 2000).

1.1.3 Ernährung

Horst Bickel publizierte 1953 eine Behandlung der PKU, die eine normale körperliche und geistige Entwicklung der Patienten durch phenylalaninarme Ernährung ermöglicht. Das Phenylalanin in der Nahrung wird auf ein Minimum reduziert, so dass es der Körper für die Eiweißsynthese verwerten kann (Bickel et al., 1953).

Phenylalaninarme Ernährung heißt für die Patienten in der Regel, dass größtenteils auf eiweißreiche Lebensmittel verzichtet wird. Dazu gehören Fleisch, Fisch, Milch, Eier und Getreideprodukte (Mönch, 2003). Da aber der Bedarf an Tyrosin und anderen lebenswichtigen Aminosäuren gedeckt werden muss, werden diese täglich in Form von phenylalaninfreien und tyrosinangereicherten Aminosäuremischungen substituiert. Es gibt verschiedene Produkte auf dem Markt, denen darüber hinaus noch verschiedene Nährstoffe und Kalorien zugesetzt sind. Zunehmend werden auch in Aminosäuremischungen für die Verabreichung jenseits des Säuglings- und Kleinkindalters essentielle und mehrfach ungesättigte Fettsäuren zugemischt.

Außerdem stehen seit einiger Zeit eiweißarme Spezialprodukte wie Eiersatz, eiweißarme Mehle, Nudeln, Gebäck, Brot usw. zur Verfügung. Hiermit können eiweißreiche Lebensmittel ersetzt werden, um einen abwechslungsreicheren Speiseplan zu ermöglichen (Teffelen-Heithoff, 1999).

Heute wird die Einhaltung der Diät auch jenseits des Kindes- und Jugendalters nicht nur in Deutschland empfohlen (Bremer et al., 1997).

Seit Ende der 1960er Jahre (in der DDR ab 1971) wird jedes Neugeborene in Deutschland auf das Vorliegen einer Phenylalaninvermehrung im Rahmen des Neugeborenen Screenings untersucht, um gegebenenfalls frühzeitig mit der Behandlung beginnen zu können und Schäden im Sinne von mentaler und statomotorischer Retardierung zu vermeiden.

1.2 Fettsäuren

1.2.1 Definition

Fettsäuren bestehen aus Kohlenstoffketten unterschiedlicher Länge. Alle Fettsäuren zeichnen sich durch eine Carboxylgruppe (COOH-Gruppe) und am gegenüberliegenden Ende der Kohlenstoffkette durch eine Methylgruppe (CH₃) aus. Beispielhaft ist in der folgenden Abbildung 2 die Strukturformel der α -Linolensäure dargestellt:

Abbildung 2: Strukturformel der α -Linolensäure n-3



Im Organismus haben Fette vielfältige Aufgaben zu erfüllen. Sie dienen als Energielieferant und Energiespeicher, als Botenstoffe und als essentieller Bestandteil der Zellwände. Die Membranlipide sind ihren Aufgaben funktionell gut angepasst. Am polaren Molekülende tragen sie hydrophile Gruppen wie Alkohole, Zucker- oder Phosphatreste. Bedeutende Strukturelemente dieser Phospho- und Glycolipide sind Glycerin und Sphingosin. Durch Variation von polaren Gruppen und Fettsäuren ergibt sich eine große Vielfalt in der Gruppe der strukturbildenden Lipide. Beispielsweise wird die wichtigste Transportform der Lipide im Plasma von Phospholipiden in den Lipoproteinen gebildet. Außerdem sind Struktur lipide mit an der Bildung lebenswichtiger subzellulärer Membranstrukturen, wie sie in den Mitochondrien und im endoplasmatischen Retikulum vorkommen, beteiligt.

1.2.2 Allgemeine Systematik

Die Länge der Kohlenstoffketten von Fettsäuren variieren zwischen 4 und 36 Kohlenstoffatomen (C-Atomen). Davon kommen in unseren Nahrungsfetten am häufigsten die mittelkettigen (6-10 C-Atome) und die langkettigen (>10 C-Atome) Fettsäuren vor. Bedingt durch den Biosyntheseweg über Acetyl-CoA (aktivierte Essigsäure enthält 2 C-Atome) haben alle natürlichen Fettsäuren eine gerade Anzahl von C-Atomen. Neben anderen Einteilungen nach speziellen physikalisch-chemischen Eigenschaften ist die Einordnung nach der Anzahl ihrer Doppelbindungen wichtig. Man unterscheidet gesättigte Fettsäuren, einfach ungesättigte Fettsäuren (= EUFS) und mehrfach ungesättigte Fettsäuren (= MUFS) voneinander. Fettsäuren, deren Kette

länger als 18 Kohlenstoffatome ist und die mindestens 2 Doppelbindungen in der Molekülkette haben, werden zu der Gruppe der sehr langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LCPUFA = long chain polyunsaturated fatty acids) zusammengefasst (Gill und Valivaty, 1997).

Die mehrfach ungesättigten Fettsäuren werden in vier Gruppen eingeteilt: Omega-3-, Omega-6-, Omega-7- und Omega-9-Fettsäuren, wobei sich die Zahl jeweils auf das Kohlenstoffatom in der Molekülkette bezieht, an dem sich die erste Doppelbindung befindet. Zur Vereinfachung wird in der Literatur „ ω “ auch oft mit einem „n“ bezeichnet (Metz, 2000). Im Mittelpunkt der Forschung stehen seit den 1970er Jahren vor allem die Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren, auf die im Weiteren näher eingegangen werden soll. Lediglich hinsichtlich der Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System beschränkt sich die Literaturübersicht auf die Omega-3-Fettsäuren, da in diesem Kontext in der Forschung bisher wenig über Omega-6-Fettsäuren beschrieben wurde.

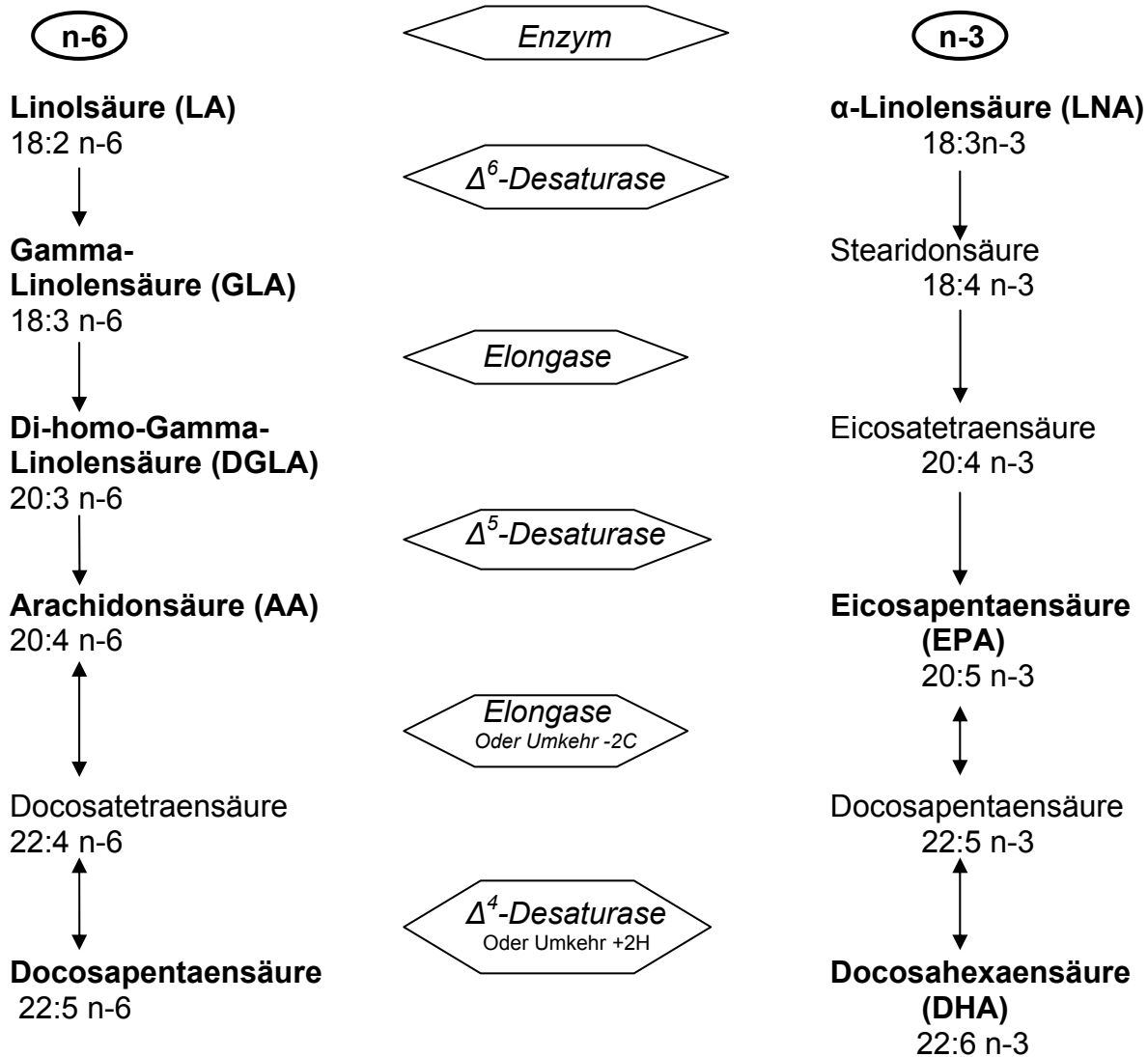
1.3 Stoffwechsel von Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren und Synthese der Eicosanoide

Ausgangssubstanzen der Omega-3- und Omega-6-Familie sind die essentiellen Fettsäuren Linolsäure (LA, 18:2 n-6) und α -Linolensäure (LNA, 18:3 n-3). Da diese essentiellen Fettsäuren vom Körper selbst nicht produziert werden können, müssen sie mit der Nahrung aufgenommen werden. In einer charakteristischen Reaktionskaskade über ein gemeinsames Enzymsystem werden die Kohlenstoffketten dieser Fettsäuren verlängert (Elongation) und Doppelbindungen in die Moleküle eingebaut (Desaturation). Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Reaktionskaskade liegt bei der Δ^6 -Desaturase (Brenner, 1977). Es folgt eine Elongation und im Wechsel eine Δ^5 -Desaturase, noch eine Elongation und als letzter Schritt die Δ^4 -Desaturase. Als Endprodukte entstehen in der Omega-3-Reihe die Docosahexaensäure (DHA, 22:6 n-3) und in der Omega-6-Reihe die Docosapentaensäure (22:5 n-6) (siehe Abbildung 3).

Die Regulation der Kaskade erfolgt über eine gegenseitige kompetitive Hemmung, so dass es bei Aufnahme von höheren Konzentrationen von α -Linolensäure (LNA, n-3) zu einer verminderten Synthese von Fettsäuren der Omega-6-Reihe kommt und umgekehrt (Sprecher, 1989). Ebenso sorgt ein Feedback-Mechanismus dafür, dass die Enzyme Δ^6 - und Δ^5 -Desaturase gehemmt werden, wenn die Folgeprodukte Arachidonsäure (AA, n-6), Eicosapentaensäure (EPA, n-3) und Docohexaensäure

(DHA, n-3) ausreichend bereitgestellt worden sind. Dabei ist auch von Bedeutung, dass die beiden letzten Schritte der Kaskade in beide Richtungen ablaufen können.

Abbildung 3: Metabolisierung von Linolsäure (LA) und α -Linolensäure (LNA) zu Derivaten der n-6/ n-3-Reihe

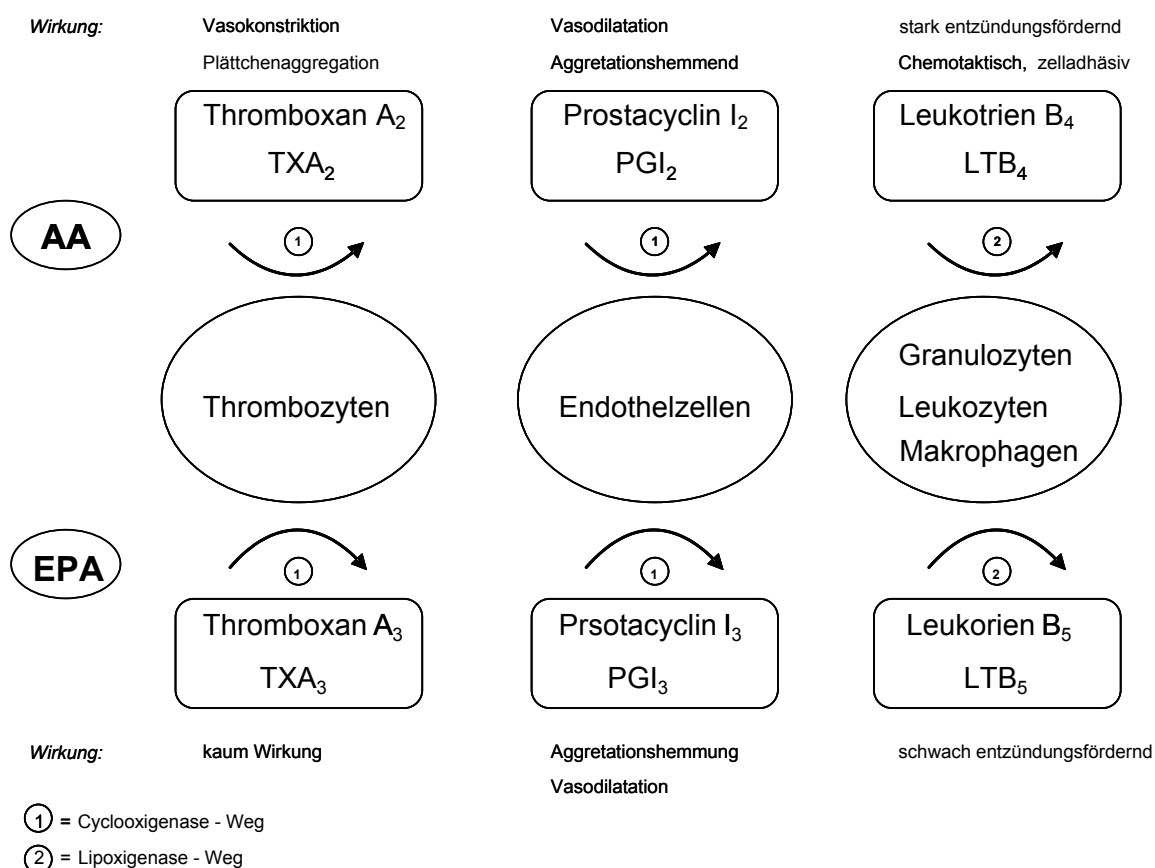


Quelle: modifiziert nach Metz: Omega-3-Fettsäuren: eine Standortbestimmung zum Millennium. Stockdorf: Forum-Medizin-Verlagsgesellschaft, 2000, S.24

Die in Abbildung 3 benannten Fettsäuren Arachidonsäure (AA) und Eicosapentaensäure (EPA) sind Ausgangssubstanzen für viele Eicosanoide, die als körpereigene Substanzen regulatorisch wirksame Mediatoren und Effektoren bilden. Viele wichtige und unterschiedliche Stoffwechselforgänge und -funktionen werden durch sie beeinflusst.

Die Synthese der Eicosanoide (Prostaglandine, Leukotriene, Thromboxane) aus AA und EPA ist eine der wichtigsten Funktionen der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren (Jump, 2002). Der oben beschriebene Syntheseweg ist eine Möglichkeit. Alternativ lassen sie sich auch durch Freisetzung von DGLA (Di-homo-Gamma-Linolensäure, n-6) aus der Zellmembran durch Phospholipase A₂ über dieselben Enzymsysteme gewinnen. Die Stoffwechselprodukte aus EPA haben dann eine Doppelbindung mehr in ihrem Molekül. Es folgt eine Metabolisierung über 2 Enzymsysteme: die Cyclooxygenase (COX) und Lipoxigenase (LOX), deren Produkte abhängig nach der jeweiligen Enzymsausstattung und Zellart weiter metabolisiert werden und zu vielfältigen biologischen Wirkungen führen. Einen vereinfachten Überblick über die Fülle an Eicosanoiden und deren Wirkung ist in Abbildung 4 am Beispiel einiger Blutzellen und Endothelzellen dargestellt.

Abbildung 4: vereinfachtes Schema zur Bildung von Eicosanoiden aus AA und EPA in verschiedenen Zelltypen und biologische Effekte der Intermediärprodukte



Quelle: modifiziert nach Metz: Omega-3-Fettsäuren: eine Standortbestimmung zum Millennium. Stockdorf: Forum-Medizin-Verlagsgesellschaft, 2000, S.39

In den folgenden Abschnitten wird an einigen Stellen auf wichtige Metabolite der Eicosanoide eingegangen und es wird gezeigt, wie diese durch Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren verändert werden können. Es wird auch auf ihre Bedeutung in der Entwicklung der Arteriosklerose näher eingegangen.

1.4 Mangelerscheinungen und Bedarf der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren

1.4.1 Mangelerscheinungen

Aus älteren Studien an Ratten und Affen ist bekannt, dass ein akuter Mangel an Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren in der Nahrung zu gestörtem Wachstum und verminderter Lern- und Sehfähigkeit führen kann (Burr, 1929, Connor et al., 1991). In den 1990er Jahren konnten diese Ergebnisse in Fütterungsstudien mit jungen Ratten bestätigt werden (Yehuda et al., 1993). Mögliche Mangelzustände lassen sich beim Menschen vor allem in der Schwangerschaft, Stillzeit (Holman et al., 1991) und in Wachstumsphasen beobachten und sind schon vor einiger Zeit bei künstlich ernährten Patienten dokumentiert worden (Bjerve et al., 1987).

1.4.2 Bedarf

Es wurde festgestellt, dass der Bedarf an Omega-3- und Omega-6- Fettsäuren am Verhältnis dieser untereinander orientiert ist und weniger an den absoluten Zufuhrmengen. Bisher fehlen große experimentelle Langzeitstudien. Man geht aufgrund der bisherigen Erkenntnisse davon aus, dass ein Verhältnis von Omega-3- zu Omega-6-Fettsäuren von mindestens 1:5 in der Ernährung günstig ist (Neuringer et al., 1988). Es wird empfohlen, täglich 30 % der Nahrungsenergie über Fette zu decken. Davon sollten maximal 10 % der Energie aus gesättigten Fettsäuren, mehr als 10 % der Energie aus einfach ungesättigten Fettsäuren und 7 bis maximal 10 % der Energie aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren stammen (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000).

Um den Bedarf an mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu decken, stehen den Menschen normalerweise die Ausgangsverbindungen der langkettigen Fettsäuren in natürlichen Nahrungsquellen zur Verfügung. Linolsäure (LA, n-6) wird bevorzugt von höheren Pflanzen gebildet. Es kann über Samen und Öle aus Sonnenblumen-, Mais- oder Sojaöl vom Menschen aufgenommen werden. Die Ausgangsverbindung für die Omega-3-Familie, α -Linolensäure, kommt nur in einigen speziellen Pflanzenölen wie Lein-, Raps-, Soja- und Walnussöl vor. Die einzige natürliche Quelle für höherwertige

Omega-3-Fettsäuren (EPA, DHA) ist fetthaltiger Seefisch (Heilbutt, Hering, Lachs, Thunfisch und weitere) (Metz, 2000).

1.5 Bedeutung der Omega-3-Fettsäuren im kardiovaskulären System

1.5.1 Klinische Relevanz im kardiovaskulären System

Die Entstehung von Arteriosklerose wird durch eine Vielzahl von Risikofaktoren beeinflusst. Es wird vermutet, dass dabei ungünstige Ernährungsgewohnheiten mit zuviel gesättigten Fettsäuren und Zucker in der täglichen Nahrung einen der wichtigsten Faktoren darstellen (Meydani, 1998). Den Anstoß, in dieser Richtung zu forschen, gaben epidemiologischen Studien an der Inuit-Bevölkerung Grönlands (Bang et al., 1971). Bei ihnen konnten im Vergleich zu einer Gruppe Dänen auf dem Festland höhere HDL-Werte bei niedrigeren Triglycerid-, LDL- und VLDL-Werten trotz erhöhter Gesamtfettzufuhr gefunden werden. Eine Erklärung dieser Unterschiede wurde in der traditionellen Ernährungsweise gesehen: eine der Hauptnahrungsquellen der Inuit sind Robben- und Walfleisch, das einen geringen Anteil an gesättigten Fettsäuren und einen hohen Anteil an Omega-3-Fettsäuren enthält (Bang et al., 1980).

Weitere wichtige Risikofaktoren für die Entstehung arterieller Plaques werden in der Hyperlipidämie (Woolf, 1989), der Hypertonie (Shantaram, 1999), dem Nikotinabusus (Kilarou et al., 2001) und der Homocystinämie (Gerhard und Duell, 1999) gesehen. Diese Risikofaktoren können zu einer Endothelschädigung führen. Ein günstiger Effekt von Omega-3-Fettsäuren auf kardiovaskuläre Risiken und proatherogene Mechanismen wird in einer Vielzahl experimenteller und klinischer Untersuchungsergebnisse bestätigt (Mori und Beilin, 2001). Beispielsweise sei hier die vielfach zitierte DART-Studie von Burr et al. 1989 genannt, welche die Reinfarktmortalität und den plötzlichen Herztod an über 2000 Patienten untersuchte und eine signifikante Senkung der Mortalität bei moderatem Fischkonsum zeigte. Andere Studien wie die Lyon-Diet-Heart-Studie und die GISSI-Studie konnten ebenfalls die koronarprotektiven Wirkungen der Omega-3-Fettsäuren bestätigen und stellten auch einen signifikanten Abfall tödlicher und nicht-tödlicher Herzinfarkte fest (Lorgeril et al., 1999, GISSI-Prevenzione Investigators, 1999). Im Gegensatz dazu konnten einige Kohortenstudien den kardioprotektiven Verzehr von Fisch nicht bestätigen, wenn die Probanden kein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko aufwiesen (Ascherio et al., 1995, Morris et al. 1995). Zu zitieren ist auch das Ergebnis der Interventionsstudie zur Primärprävention der KHK, die zu dem Ergebnis kam, dass

Omega-3-Fettsäuren einen signifikant protektiven Effekt auf kardiovaskuläre Krankheiten ausüben (Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT), 1990). Im Gesamtbild dieser Studien kann von einer protektiven Wirkung der Omega-3-Fettsäuren ausgegangen werden. Deren Mechanismen werden im folgenden Kapitel weiter erläutert. Anzumerken ist, dass es in der multifaktoriellen Pathogenese der Arteriosklerose keinen einzelnen Mediator gibt. Vielmehr handelt es sich um ein Zusammenspiel vieler Mediatoren, von denen nur einzelne hier kurz dargestellt werden können.

1.5.2 Mechanismen der protektiven Wirkung der Omega-3-Fettsäuren im kardiovaskulären System

Die vielen verschiedenen Mechanismen, die zur protektiven Wirkung der Omega-3-Fettsäuren bei kardiovaskulären Erkrankungen führen, sind in der folgenden Tabelle 1 zusammengefasst:

Tabelle 1: protektive Wirkungen von Omega-3-Fettsäuren bei kardiovaskulären Erkrankungen

| Senkung des Risikos | Verminderung der Wirkung von proartherogener/ prothrombotischer Faktoren durch |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">- Hypertriglyzeridämie- Fibrinogen-Spiegel- arterielle Hypertonie | <ul style="list-style-type: none">- Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle- Adhäsion von Monozyten und Granulozyten an das Endothel- Bildung von PDGF-A und PDGF-B- Wachstum von glatter Gefäßmuskulatur und Fibroblasten- Synthese von Thromboxan A₂ und Leukotrien B₄- Senkung der Blutviskosität- Expression wachstumskorrelierter Gene- Synthese von plättchenaktivierendem Faktor- Freisetzung von Zytokinen (Interleukin-1, TNF-α)- Sensitivierung gegenüber adrenerger Stimulation- Aktivierung von Ca²⁺- und Na-Kanälen- Aktivität der Ca²⁺- und Mg²⁺-ATPase- Plättchenaggregation und -adhäsion |
| Steigerung protektiver Faktoren | |
| <ul style="list-style-type: none">- Synthese von Prostaglandin I₃, Thromboxan A₃ und Leukotrien B₅- Zunahme der Deformierbarkeit von Erythrozyten- Synthese des Vasodilatators Stickstoffmonoxid (NO)- Fluidität der Zellmembran | |

Quelle: modifiziert und zusammengefasst nach Hahn et al.: Wirkstoffe funktioneller Lebensmittel in der Prävention der Arteriosklerose. Ernährungs-Umschau 49(5), 2002, S.174

Die Leukozytenadhäsion und die vermehrte Ablagerung von oxidiertem LDL-Cholesterin sind von elementarer Bedeutung in der Pathogenese der Arteriosklerose. Auch hier konnte in Studien gezeigt werden, dass diese Effekte durch Omega-3-Fettsäuren reduziert werden können (Fernandes und Venkatraman, 1993, Lehr et al., 1991).

Wichtige Zytokine in diesem Zusammenhang konnten in Vergleichsstudien von Omega-3-, -6-, und -9-Fettsäuren an Probanden gefunden werden (Baumann et al., 1999). Es konnte gezeigt werden, dass die Genexpression für den platelet-derived growth factor (PDGF-A und PDGF-B) und das monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in Monozyten nur durch die Gabe von Omega-3-Fettsäuren signifikant gesenkt werden können. Es gibt auch Hinweise in Studien an verschiedenen Tiermodellen, die darauf hindeuten, dass die Produktion von PDGF durch mehrfach ungesättigte Fettsäuren stimuliert wird (Cheat et al., 1994).

1.5.3 Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf Mechanismen am Endothel der Gefäße

An einer pathologisch veränderten Gefäßwand fallen vermehrt vasokonstriktorisch und prothrombotisch wirkende Mediatoren wie Thromboxan an. Mit der Nahrung zugeführte Omega-3-Fettsäuren sind in der Lage, dieses Missverhältnis zu korrigieren und über die Freisetzung von PCl_3 -Metaboliten zu einer vermehrten Synthese vasodilatatorisch wirkender Prostacycline zu führen (Schmidt, 1997, Simopoulos, 1997). Ein weiterer Mechanismus der Vasodilatation wird über das Stickstoffmonoxid (NO) und die Aktivierung der löslichen Guanylat-Cyclase über cGMP (cyclisches Guanosinmonophosphat) mit nachfolgend gesteigertem Calciumeinstrom erreicht. Hier führen die Omega-3-Fettsäuren zu einer gesteigerten Synthese von NO (McVeigh et al. 1993). NO nimmt eine der Schlüsselrollen in der Pathogenese der Arteriosklerose ein, denn auch die Thrombozytenaggregation und Monozytenadhäsion wird über NO vermittelt (Arnal et al., 1999). Die Proliferation und Migration der Monozyten wird über NO gehemmt (Shimokawa, 1999). Außerdem konnte gezeigt werden, dass NO die Permeabilität des Endothels vermindert und so weniger Monozyten und Lipoproteine in die Intima eindringen können (Wever et al., 1998). Vielfältige chemotaktische Signale und inflammatorische Mediatoren (unter anderem verschiedene Interleukine: 1,2,4,6,8 und 10, $TNF-\alpha$) können durch Omega-3-Fettsäuren vermindert werden (Endres et al., 1995) und so die inflammatorische Komponente der Arteriosklerose Genese positiv beeinflussen. Dies gilt insbesondere auch durch eine entzündungshemmende Wirkung der Omega-3-Fettsäuren, welche über eine verminderte Leukozytenadhäsion und verminderte Synthese der Leukotrien B_4 -Metaboliten erreicht wird (Henzen, 1995).

1.5.4 Effekte in der Blutrheologie

Neben den oben beschriebenen Mechanismen zur Hemmung der Plättchen-aggregation gibt es eine ganze Reihe weiterer prothrombotischer Agonisten, die durch Omega-3-Fettsäuren gehemmt werden. Die hemmende Wirkung kommt vor allem bei der ADP-, Kollagen-, Thrombin- und Adrenalin-induzierter Aggregation zum Tragen (Kristensen, et al., 1989). Auch senken die Omega-3-Fettsäuren die Blutviskosität, den Fibrinogenspiegel (Hwang et al., 1997) und verschiedene wichtige Faktoren in der Blutgerinnungskaskade, wie den von Willebrand-Faktor (Shahar et al., 1993), Faktor VIII und Thrombomodulin.

Die Blutviskosität wird auch durch den vermehrten Einbau von EPA und DHA in die Erythrozytenmembran günstig beeinflusst, denn durch den Einbau dieser Omega-3-Fettsäuren in die Membran wird die Erythrozytenverformbarkeit erhöht (Terano et al., 1983) und damit die Blutviskosität gesenkt.

1.5.5 Einfluss von Omega-3-Fettsäuren auf Mechanismen im Lipoproteinstoffwechsel

Es ist bekannt und in mehreren Studien bestätigt, dass durch Supplementierung mit Omega-3-Fettsäuren die Konzentrationen der Triglyceride und der triglyceridreichen Lipoproteine im Blut gesenkt werden können (Harris, 1999). Es ist anzunehmen, dass die Konzentration freier Fettsäuren im Plasma durch die Gabe von Omega-3-Fettsäuren vermindert wird (Drevon, 1992). Dadurch werden weniger Triglyceride und VLDL in der Leber gebildet (Singer, 1994). Auch konnten Hinweise auf eine Inhibition der hepatischen Enzyme der Triglyceridsynthese gefunden werden (Schmidt, 1997). Diese Mechanismen, insbesondere die verminderte Sekretion von hepatischen VLDL (Simpoulos, 1997) und auch die vermutlich gesteigerte Umwandlung zu LDL (Nestel, 2000), führen zu einer verminderten Triglyceridkonzentration im Plasma. Diese vermehrte Umwandlung von VLDL zu LDL konnte bis jetzt nur bei Patienten mit entsprechenden Fettstoffwechselstörungen und hohen Triglycerid-Ausgangswerten in einer Studie bestätigt werden (Singer, 1994). Andere Studien weisen nach Omega-3-Fettsäure-haltiger Diät eine Reduktion von LDL nach (Failor et al., 1988). Eine Erklärung hierfür, wird in der gleichzeitigen Reduktion der gesättigten Fettsäuren in der Nahrung gesehen. Die Senkung des LDL-Cholesterins wird vermutlich durch eine Hemmung der endogenen Cholesterolsynthese erzielt (Nestel, 2000).

1.5.6 Auswirkungen auf den Blutdruck

Es kann vermutet werden, dass Omega-3-Fettsäuren antihypertensiv wirken. In einer Metaanalyse aus 31 randomisierten Studien konnte dies nachgewiesen werden. Allerdings ist eine hohe Variabilität einzelner Studienergebnisse zu erkennen (Appel et al., 1993). Die Blutdrucksenkung scheint von der Menge der aufgenommenen Omega-3-Fettsäuren abhängig zu sein. So ist bei einer Menge von <3 g/ Tag kein, bei 3-7 g/ Tag eine moderate und bei 15 g/ Tag eine ausgeprägte Blutdrucksenkung in den Studien nachweisbar. Die moderate und therapeutisch übliche Dosis von 6-9 g/ Tag erreicht eine systolische und diastolische Blutdrucksenkung von etwa 10 mmHg. Auch hier zeigt sich, dass eine Vielzahl von Mechanismen an der Blutdruckhöhe beteiligt ist und dass an unterschiedlichen Stellen Omega-3-Fettsäuren modulierend eingreifen können.

1.6 Ziele der vorliegenden Arbeit

Der Zusammenhang von PKU-Erkrankung und Profil der Fettsäuren (insbesondere der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren) ist seit Anfang der 1990er Jahre mehrfach in Studien untersucht worden. Dabei wurden weltweit viele Studien an Kindern und Jugendlichen durchgeführt. In diesem Lebensabschnitt ist die medizinische Überwachung besonders engmaschig. Der Phenylalaninspiegel muss unter den empfohlenen Höchstwerten der APS liegen, um Defizite in der körperlichen und geistigen Entwicklung zu verhindern (Bremer et al, 1997). Die Überwachung ist dabei nicht auf das junge Alter der Patienten beschränkt. Auch erwachsene PKU-Patienten, welche die phenylalaninarme Ernährung nicht mehr einhalten, können wieder klinische Auffälligkeiten entwickeln (Channon et al., 2007). Es ist insofern auch wichtig, Untersuchungen an erwachsenen PKU-Patienten durchzuführen. Da seit Ende der 1960er Jahre in Deutschland das Stoffwechselscreening bei Neugeborenen durchgeführt wird, ist es nun auch möglich, die Generation der heute erwachsenen und frühzeitig behandelten PKU-Patienten zu untersuchen.

Ziel der Arbeit ist es herauszufinden, wie sich bei PKU-Patienten im frühen Erwachsenenalter die Versorgung mit Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren darstellt. Um dies zu kontrollieren, wurden zwei Gruppen von Fettsäurenwerten ermittelt. Die erste Gruppe der Werte sollte mittels Serumanalysen zeigen, wie die momentane Versorgungslage mit Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren ist. Dieser aktuelle Wert ist relativ leicht beeinflussbar. Die Patienten können unmittelbar vor der Untersuchung

vermehrt pflanzliche Öle mit hohem Anteil an essentiellen Fettsäuren aufgenommen haben, wodurch dann hohe Werte gemessen werden, die über dem tatsächlichen Mittelwert der jeweiligen Fettsäure bei diesem Patienten liegen. Deshalb ist darüber hinaus die Analyse der Erythrozytenmembranen wichtig (zweite Gruppe von Werten). Da die Erythrozyten eine maximale Lebensdauer von 120 Tagen aufweisen, spiegelt die Analyse der Erythrozytenmembranen die tägliche Fettsäurezufuhr von Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren der vorausgegangenen Wochen/ Monate wieder (Moilanen et al., 1985).

Einige PKU-Patienten nehmen Aminosäuremischungen mit Zusätzen von mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu sich. So stellt sich auch die Frage, ob sich diese zusätzliche Versorgung im Serum und in der Erythrozytenmembran widerspiegelt und ob Unterschiede zu den PKU-Patienten festzustellen sind, die diese speziellen Aminosäuremischungen mit Zusätzen nicht zu sich nehmen.

Die Erwartung war, dass bei vielen Patienten ein Mangel an diesen Fettsäuren nachzuweisen ist, so wie die in Kapitel 4 genannten Studien an PKU-kranken Kindern und Jugendlichen zeigten. Für diesen Fall wäre eine zusätzliche Nahrungsergänzung mit Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren zu diskutieren.

Es gibt in der für diese Arbeit untersuchten Fachliteratur keine Hinweise auf standardisierte Normwerte dieser Fettsäuren. Es ist nicht Ziel dieser Arbeit, Normwerte zu ermitteln, so dass sich aus einem möglichen Mangel nur eine generelle Empfehlung für die vermehrte Gabe von entsprechenden Fettsäuren ableiten lässt.

Auf die kardioprotektive Wirkung der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren wurde bereits hingewiesen. Sollte der erwartete Mangel an Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren bei PKU-Patienten vorliegen, stellt sich weiterführend die Frage, ob eine zu geringe Aufnahme auch eine defizitäre Versorgungslage zur Folge hat und inwieweit eine solche Unterversorgung gegebenenfalls die Entwicklung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen begünstigt. Hierfür wurden eine dopplersonographische Untersuchung der Halsgefäße und eine Thrombozytenfunktionsuntersuchung im Blut durchgeführt. Die detaillierte Auswertung dieser Ergebnisse bei PKU-Patienten dieser Studie wird in einer weiteren wissenschaftlichen Arbeit gezeigt (Nee, 2008).

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studiendesign

2.1.1 Allgemein

Über einen Zeitraum von 7 Monaten (April – November 2005) haben erwachsene PKU-Patienten der Stoffwechselsprechstunde für angeborene Stoffwechselerkrankungen der Charité, Campus Virchow Klinikum, in Berlin und gesunde Probanden an der vorliegenden Studie teilgenommen. Die Teilnahme war freiwillig und wurde schriftlich erklärt.

Einschlusskriterien:

Das Alter der PKU-Patienten und Probanden wurde zwischen 18 und 38 Jahren definiert. Bei den PKU-Patienten war die PKU frühzeitig erfasst und lebenslang therapiert worden. Sie nehmen alle täglich Aminosäuremischungen zu sich. Die Compliance der Patienten wird durch die regelmäßige Kontrolle der Phenylalanin- und Tyrosin-Werte dokumentiert. Der Zielwert für das Phenylalanin in dieser Altersgruppe soll 0,7 – 20 mg/dl bei täglicher Einnahme ihrer Aminosäuremischungen liegen (Bremer et al., 1997).

Es wurden 43 PKU-Patienten und 58 gesunde Probanden in die Studie aufgenommen.

Ausschlusskriterien:

Minderjährige Patienten und Patienten, die älter als 38 Jahre sind, Patienten mit einer spät entdeckten PKU, sowie schwerstbehinderte Patienten wurden von der Teilnahme ausgeschlossen. Für die gesunden Probanden der Kontrollgruppe wurden die gleichen Kriterien angesetzt. Zudem durften die Teilnehmer der Kontrollgruppe keine Stoffwechselerkrankung haben.

Genehmigung der Ethikkommission:

Die Durchführung dieser Studie wurde von der Ethikkommission der Humboldt-Universität Berlin ohne Bedenken genehmigt (Antragsnummer: EA 2/122/05).

2.1.2 Anamnese und klinische Untersuchung

Bei jedem PKU-Patienten wurde eine aktuelle Anamnese einschließlich täglicher Medikamenteneinnahme und Tabakkonsum erhoben. In der Familienanamnese interessierten besonders Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes mellitus und Fettstoffwechselstörungen. Im Rahmen der halbjährlichen bzw. zum Teil jährlichen Vorstellung in der Stoffwechselsprechstunde wurde eine klinische Untersuchung der PKU-Patienten durchgeführt und dokumentiert. Die Körpergröße und das Gewicht wurden ermittelt und daraus der BMI (Body Mass Index) berechnet. Auch bei jedem gesunden Probanden wurde die aktuelle Anamnese und Familienanamnese erfragt und das Körpergewicht und die Körpergröße notiert.

2.1.3 Ablauf

Jeder Patient und jeder gesunde Proband wurde morgens nüchtern (mindestens 4 Stunden Nahrungskarenz) zur Blutabnahme einbestellt. Zu diesem Zeitpunkt sollte der PKU-Patient bzw. der Proband gesund sein und sich gesund fühlen, sowie über 5 Tage in einem Ernährungsprotokoll gemäß den Vorgaben des Freiburger Ernährungsprotokolls (Nutri Science GmbH, 2004) erfasst haben, was und wie viel in dieser Zeit gegessen und getrunken wurde. Besonders interessierte die Verwendung der Öle und Fette. Diese wurden im Rahmen der Ernährungsberatung in der Sprechstunde für angeborene Stoffwechselerkrankungen von einer ausgebildeten Ernährungsberaterin erfasst. Des Weiteren sollte herausgefunden werden, welche und wie viel von den Aminosäuremischungen aufgenommen wurde. Hierbei ist zu bedenken, dass in neueren Produkten auch mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit substituiert werden.

Der zweite Teil der Untersuchung fand in der Kardiologie der Charité am Campus Rudolf Virchow statt. Dort wurde eine dopplersonographische Untersuchung der extrakranialen Halsgefäße durchgeführt. Die Ergebnisse sind nicht Bestandteil dieser Arbeit, werden aber in einer weiteren wissenschaftlichen Arbeit gezeigt (Nee, 2008).

2.1.4 Laborparameter

In der Gruppe der PKU-Patienten wurden routinemäßig folgende Blutparameter erhoben und im Labor am Campus Rudolf Virchow nach den allgemein geltenden Standards analysiert:

Tabelle 2: analysierte Laborparameter der PKU-Patienten

| Elektrolyte | Blutbild | Blutfette | Proteine | Nieren-Werte | Spuren-elemente |
|---------------------------------|----------------------------------|---|--|------------------------|------------------------|
| Na K Ca Phosphor Mg | Hb Thrombozyten Leukozyten | Cholesterin HDL LDL Triglyceride | Gesamt Albumin Phenylalanin Tyrosin | Kreatinin Harnstoff | Selen Zink |

Quelle: eigene Darstellung

Für jeden Probanden sind folgende Laborparameter erhoben worden:

Tabelle 3: analysierte Laborparameter der gesunden Probanden

| Elektrolyte | Blutbild | Blutfette |
|---------------------------------|----------------------------------|---|
| Na K Ca Phosphor Mg | Hb Thrombozyten Leukozyten | Cholesterin HDL LDL Triglyceride |

Quelle: eigene Darstellung

2.1.5 Bestimmung der Fettsäuren

Das Profil der freien Fettsäuren im Serum und die aus der Erythrozytenmembran gewonnen Fettsäuren wurden für beide Gruppen ermittelt. Insgesamt wurden 54 Fettsäuren mit Hilfe der gaschromatographischen Analyse am ernährungswissenschaftlichen Institut der Universität Halle-Wittenberg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Eder gemessen. Besonders von Interesse waren dabei folgende Fettsäuren:

Tabelle 4: wichtige Omega-Fettsäuren im Überblick

| Strukturformel | Trivialname | Abkürzung | Chemische Bezeichnung nach IUPAC | Gruppe |
|-----------------------|------------------------|------------------|---|---------------|
| C 18:3 | α-Linolensäure | LNA | all-cis-9,12,15-Octadecatriensäure | Omega-3 |
| C 20:5 | - | EPA | all-cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure | Omega-3 |
| C 22:5 | - | DPA | all-cis-7,10,13,16,19-Docosapentaensäure | Omega-3 |
| C 22:6 | - | DHA | all-cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure | Omega-3 |
| C 18:2 | Linolsäure | LA | cis-9,12-Octadecadiensäure | Omega-6 |
| C 18:3 | γ-Linolensäure | GLA | all-cis-6,9,12-Octadecatriensäure | Omega-6 |
| C 20:3 | Di-homo-γ-Linolensäure | DGLA | all-cis-8,11,14-Eicosatriensäure | Omega-6 |
| C 20:4 | Arachidonsäure | AA | all-cis-5,8,11,14-Eicosatetraensäure | Omega-6 |
| C 22:4 | - | - | all-cis-7,10,13,16-Docosatetraensäure | Omega-6 |
| C 22:5 | - | - | all-cis-4,7,10,13,16-Docosapentaensäure | Omega-6 |
| C 18:1 | Ölsäure | - | cis-9-Octadecensäure | Omega-9 |

Quelle: eigene Darstellung

2.2 Aufarbeitung der Proben

Es werden 9 ml Vollblut in einer EDTA-Monovette der Firma Sarstedt gewonnen. Die folgende Zentrifugation dieser Blutprobe findet in einer Zentrifuge (Firma SWC) für 15 min bei 3000 Umdrehungen/ min statt. Das Serum wird mit einer 1 ml Eppendorf-Pipette abpipettiert und bis zur weiteren Analyse bei -20°C in einer Gefriertruhe (Firma Pegasus) aufbewahrt.

Ein Waschgang für die Erythrozyten folgt. Hierfür sind die Erythrozyten mit 6 ml einer physiologischen Kochsalzlösung der Firma Fresenius in ein Reagenzglas gegeben worden. Daran schließt sich eine zehnminütige Zentrifugation bei 1500 Umdrehungen/ min in der oben genannten Zentrifuge an. Der Überstand wird verworfen. Der gesamte Vorgang wird insgesamt dreimal wiederholt. Bis zur weiteren Verarbeitung werden die Proben maximal 2 Wochen bei -20°C gelagert. Nach dem langsamen Auftauen bei

Raumtemperatur erfolgt die weitere Verarbeitung. Mit einer Glaspipette der Firma Eppendorf werden 4 ml der gewaschenen Erythrozyten gewonnen.

Nach der Methode von Morrison und Smith (1964) mit Modifikationen nach Eder et al. (1991) erfolgt die Bestimmung der Fettsäuren im Lipidextrakt der Erythrozytenmembran. Es ist zu bedenken, dass die Lipide und Proteine im Blut teilweise miteinander verbunden sind. Diese sollen durch ein Lösungsmittelgemisch getrennt werden. Um die Lipide vollständig zu extrahieren, wird nach der Methode von Hara und Radin (1978), modifiziert nach Eder und Kirchgessner (1993), ein Gemisch aus einem polaren und einem unpolaren Lösungsmittel verwendet. Für die Aufarbeitung der Fettsäuren wurde hier n-Hexan (Firma Merck 1.04372.2500) und Isopropanol (Firma Merck 1.09634.1000) im Verhältnis 3:2 (v/v) verwendet. Dafür werden diese in Glasreagenzgläser der Firma Duran gefüllt, mit entsprechend passenden Glasstopfen (Firma Duran) fest verschlossen, mit Parafilm abgedichtet und für 20 Stunden in den Schüttelinkubator Heidolph REAX 2 gestellt. Die Proben werden für 10 min bei 800 Umdrehungen/ min zentrifugiert (Zentrifuge Hercaceus Christ von Kendro Laborr Produkt, Typ 4123). Das Lösungsmittel wird abpipettiert und der Lipidextrakt verwendet. Es erfolgt die Zugabe von Butylhydroxytoluen (BHT) (0,2 mg/ml) als Antioxidanz. BHT dient dazu, die Hydrolyse und Oxidation der Fettsäuren zu vermeiden (Müller und Novak, 1978). Unter Stickstoffbegasung im Rotationsverdampfer (Firma Büchi 461) werden Aliquote des gewonnenen Lipidextraktes bis zur Trocknung eingeeengt. Man verwendet dafür entsprechende Glasvials, deren Leergewicht zuvor mit einer Waage (Firma Sartorius MC1) ermittelt wurde. Nach diesem Vorgang wird das Gewicht erneut ermittelt und die Glasvials werden mit einem entsprechenden Deckel versehen. Die Lagerung der Proben bis zu Analyse erfolgt bei -70°C in einer Gefriertruhe der Firma Pegasus.

2.3 Analytik

2.3.1 Prinzip der Gaschromatographie

Die Gaschromatographie ist eine weltweit etablierte Methode zum Auftrennen chemischer Gemische in seine Ausgangssubstanzen. Heute steht der Begriff für eine ganze Familie von Trennmethoden. Ein gelöstes Substanzgemisch wird als mobile Phase (Gas oder Flüssigkeit) über eine stationäre Phase geleitet und dabei in seine Bestandteile aufgetrennt (Kellner, 1998). Die Affinität zwischen fester und stationärer

Phase, aber auch die Molekülgröße, Polarität und Löslichkeit, sind entscheidende Faktoren bei der Molekültrennung.

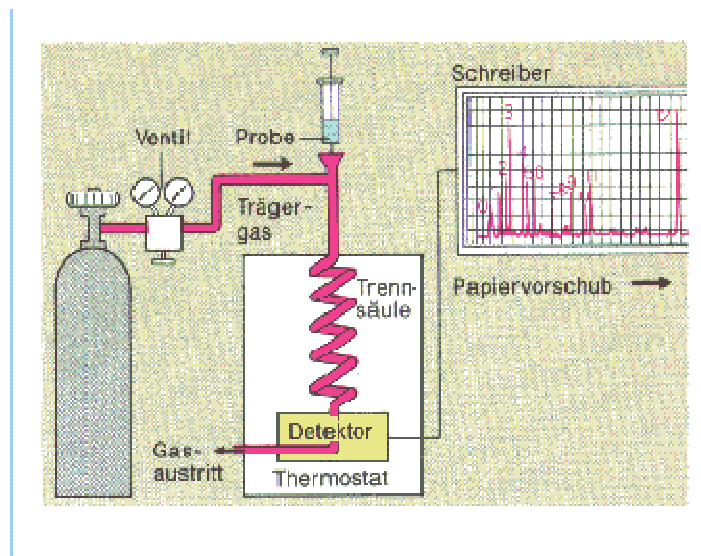
Die GSC (Gas Solid Chromatography) wird von der GLC (Gas Liquid Chromatography) unterschieden. Bei der GSC dient ein poröser Feststoff als stationäre Phase, während bei der GLC als stationäre Phase eine visköse Flüssigkeit verwendet wird. Die Trennung der flüchtigen Substanzen erfolgt entweder in innen beschichteten Kapillaren aus amorphem Siliziumdioxid und einem inerten (reaktionsträgen) Trägergas (Helium, Wasserstoff oder Stickstoff) oder in einer mit feinkörnigem Trägermaterial gefüllten Säule.

Zur Messung des Gasstromes mit den darin enthaltenen Substanzen können verschiedene Detektorsysteme verwendet werden. Häufig sind Flammenionisationsdetektoren (FID) in der Anwendung.

2.3.2 Funktionsweise

Über den Injektor wird eine Probe in einen Gaschromatograph (GC) eingespritzt. Diese sollte stark verdünnt in einem leicht siedenden Lösungsmittel vorliegen. Der Injektor wird bis auf 250°C erhitzt. Hinter dem Injektor befindet sich die so genannte Säule. In den modernen Geräten handelt es sich meist um innen beschichtete Kapillarsäulen, welche eine gute Trennleistung erreichen. Die Kapillarsäule ist in einen Ofen eingebettet, der ein präzises Erhitzen nach festgelegten Temperaturprogrammen ermöglicht. Die verdampfte Probe durchströmt die Kapillarsäule und trifft am Ende auf das Detektorsystem. Dieses gibt die gemessenen Impulse an einen angeschlossenen Computer mit entsprechender Software weiter und verarbeitet die Impulse zu den dazugehörigen Peaks.

Abbildung 5: Schema eines Gaschromatographen



Quelle:<http://bioanalytik.wzw.tum.de/hva-homepage/Arbeitsbetrieb/Arbeitsbereiche/ger%C3%A4tebeschreibung/GC.htm>, Zugriff: 1.10.2007

2.3.3 Analyse der Proben im GC

Zunächst erfolgt die Methylierung der Fettsäuren mit Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH). Diese Methylierung ist notwendig, da die Fettsäuren bei Arbeitstemperaturen des Gaschromatographen nicht flüchtig sind und dadurch ohne Zersetzung nicht verdampft werden können (Butte, 1983). Die Lipidextrakte aus den Serum-Proben und die Proben mit den Erythrozytenmembranen wurden unter den gleichen Bedingungen verarbeitet. Die Analyse erfolgte im ernährungswissenschaftlichen Institut der Universität Halle-Wittenberg unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Eder unter folgenden Bedingungen:

- Gaschromatograph HP 5890 (Hewlett Packard GmbH, Waldbronn) mit Autosampler HP 7673
- Injektion von 0,5 µl Splitless
- Trennung an der FUSED FATTY ACID PHASE-Silica-Trennsäule mit einer Länge von 30 m, Innendurchmesser von 0,53 mm und Trennphasenbeschichtung von 1 µm (Firma Marcherey und Nagel, Düren)
- Trägergas: Hydrogen 8,9 ml/min
- Zugabe des internen Standard Pentadecansäuremethylester (C15:0)
- Auswertung mit Unterstützung der HP 3365 Chemstation (Hewlett Packard GmbH, Waldbronn)

Für jede Probe wird ein Datenausdruck mit Chromatogramm erstellt.

2.4 Auswertung der Ernährungsprotokolle

Nach dem Freiburger Standardprotokoll wurde über einen Zeitraum von 5 Kalendertagen die Ernährung jedes PKU-Patienten und Probanden erfasst. Die Auswertung erfolgte unter der Leitung einer erfahrenen Ernährungsberaterin und dem Softwareprogramm Prodi Expert 5.0 Version 3 (Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2006).

Folgende Daten wurden auf der Datengrundlage der Ernährungsprotokolle aus 5 Tagen ausgewertet:

Tabelle 5: ausgewertete Daten der Ernährungsprotokolle

| | |
|--------------------------------------|------------------|
| Gesamtkalorien | in kcal |
| Eiweiß | in g |
| Kohlenhydrate | in g |
| Fett | in g |
| gesättigte Fettsäuren * | in g |
| einfach ungesättigte Fettsäuren ** | in g |
| mehrfach ungesättigte Fettsäuren *** | in g |
| Cholesterine | in mg |
| Nährstoffrelation | |
| Eiweiß | in % der Energie |
| Kohlenhydrate | in % der Energie |
| Fett | in % der Energie |

Quelle: eigene Darstellung

*Unter den **gesättigten Fettsäuren** werden in der Auswertung der Ernährungsprotokolle laut Herstellerangaben folgende Fettsäuren zusammengefasst: Butansäure / Buttersäure, Hexansäure / Captonsäure, Octansäure / Caprylsäure, Decansäure / Caprinsäure, Dodecansäure / Laurinsäure, Tetradecansäure / Myristinsäure, Pentadecansäure, Hexadecansäure / Palmitinsäure, Heptadecansäure, Octadecansäure / Stearinsäure, Eicosansäure / Arachinsäure, Deconsäure, Tetracosansäure.

** Unter den **einfach ungesättigten Fettsäuren** werden in der Auswertung der Ernährungsprotokolle laut Herstellerangaben folgende Fettsäuren zusammengefasst: Tetradecensäure, Pentadecensäure, Hexadecensäure / Palmitoleinsäure, Heptadecensäure, Octadecensäure / Ölsäure, Eicosensäure, Decosensäure / Erucasäure, Tetracosensäure.

*** Unter den **mehrfach ungesättigten Fettsäuren** werden in der Auswertung der Ernährungsprotokolle laut Herstellerangaben folgende Fettsäuren zusammengefasst: Hexadecadiensäure, Hexadecatetraensäure, Octadecadiensäure / Linolsäure, Octadecatriensäure / Linolensäure, Octadecatetraensäure / Stearidonsäure, Nondecatriensäure, Eicosadiensäure, Eicosatriensäure, Eicosatetraensäure / Arachidonsäure, Eicodonsäure, Docosadiensäure, Docosatriensäure, Docosatetraensäure, Docosapentaensäure, Docosahexaensäure.

2.5 Datenanalyse und Statistik

Die Analyse der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 11.5.1.) Es wurde für die einzelnen Gruppen der Mittelwert, die Standardabweichung und der Standardfehler des Mittelwertes berechnet.

Beim Vergleich der Fettsäuren zwischen der Gruppe der PKU-Patienten und den Probanden wurde basierend auf der Annahme, dass in der Natur häufig keine Gauß'sche Normalverteilung vorliegt (Gebelein, 1950), als nichtparametrischer Test der Mann-Whitney Test angewendet. Dabei sollten Differenzen zwischen zwei Gruppen auf ihre statistische Signifikanz hin untersucht werden. Die Unabhängigkeit zweier Stichproben ist dabei eine Grundvoraussetzung und wurde in der Arbeit erfüllt. Gleiches gilt für den Vergleich innerhalb der PKU-Gruppe als Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe.

Das Signifikanzniveau wurde für $p < 0,05$ festgelegt. Ist der p-Wert kleiner als das festgelegte Signifikanzniveau p , so liegt statistische Signifikanz vor.

3 RESULTATE

3.1 Deskriptive Daten der Gruppen

PKU-Patienten:

Es wurden 43 PKU-Patienten in die Studie aufgenommen. Das Durchschnittsalter lag bei $28,07 \pm 0,96$ Jahren. Darunter waren 21 weibliche und 22 männliche Patienten.

Alle Patienten nehmen regelmäßig ihre Aminosäuremischungen in individuellen Dosierungen zu sich. 18 PKU-Patienten aus dieser Gruppe nehmen neuere Produkte, die mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren und anderen Nährstoffen angereichert sind, mindestens einmal täglich zu sich. Sie bilden die „Substitutionsgruppe“. 8 PKU-Patienten dieser Gruppe sind weiblich. 25 PKU-Patienten verwenden herkömmliche Aminosäuremischungen ohne diese speziellen Fettsäurezusätze und werden im folgendem als „Nicht-Substitutionsgruppe“ bezeichnet. Davon sind 13 PKU-Patienten weiblichen Geschlechts.

Kontrollgruppe:

Die Teilnehmer der Kontrollgruppe waren Studenten, Krankenschwestern, Geschwister und Bekannte der PKU-Patienten. In die Studie wurden 58 freiwillige Teilnehmer eingeschlossen, die im Durchschnitt $26,22 \pm 0,5$ Jahre waren. Darunter waren 39 Frauen und 19 Männer.

Es konnten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Alter und Geschlechterverteilung zwischen beiden Gruppen (PKU-Patienten gesamt versus Kontrollgruppe) und innerhalb der PKU-Gruppe (Substitution versus Nicht-Substitution) festgestellt werden.

Die erfragten Angaben bezüglich der Familienanamnese von Herz-Kreislauferkrankungen (Hypertonus, Herzinfarkt, Hypercholesterinämie) und Diabetes mellitus bei den PKU-Patienten und Probanden und die Frage, ob die Patienten und Probanden Raucher sind, ergaben aufgrund der sehr niedrigen zutreffenden Angaben keine Grundlage für eine statistische Auswertung und konnten dementsprechend in der Auswertung nicht weiter berücksichtigt werden.

3.2 BMI, Blutdruck und erfasste Laborparameter

PKU-Patienten:

Der BMI lag in der Gruppe der PKU-Patienten bei $24,30 \pm 0,69 \text{ kg/m}^2$. Es wurde ein mittlerer Blutdruck von $97,3 \pm 1,8 \text{ mmHg}$ gemessen.

Kontrollgruppe:

Der Mittelwert des BMI lag in der Kontrollgruppe bei $21,96 \pm 0,31 \text{ kg/m}^2$. Der mittlere Blutdruck lag bei $94,6 \pm 1,2 \text{ mmHg}$.

Die folgende Tabelle 6 zeigt die erfassten Laborparameter der PKU-Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 6: Laborparameter in der PKU-Gruppe und Kontrollgruppe

| | Referenzbereich | PKU gesamt n=43 (\pm SEM) | Kontrollgruppe n=58 (\pm SEM) |
|--------------------|-------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| Natrium | 134 - 145 mmol/l | $140,4 \pm 0,32$ | $139,68 \pm 0,22$ |
| Kalium | 3,4 - 5,2 mmol/l | $3,88 \pm 0,11$ | $4,07 \pm 0,44$ |
| Calcium | 2,15 - 2,65 mmol/l | $2,44 \pm 0,01$ | $2,39 \pm 0,01$ |
| Chlorid | 95 - 112 mmol/l | $103,53 \pm 2,67$ | $104,93 \pm 0,31$ |
| Phosphor | 0,8 - 1,5 mmol/l | $1,07 \pm 0,12$ | $1,11 \pm 0,25$ |
| Magnesium | 0,75 - 1,06 mmol/l | $0,79 \pm 0,03$ | $0,82 \pm 0,02$ |
| Hb | ♂ 14,0 - 17,5 ♀ 12,3 - 15,3 g/dl | $14,87 \pm 0,18$ | $14,37 \pm 0,21$ |
| Thrombozyten | 150 - 400 /nl | $255,125 \pm 10,2$ | $239,464 \pm 6,68$ |
| Leukozyten | 4,5 - 11,0 /nl | $6,81 \pm 0,34$ | $5,93 \pm 0,23$ |
| Gesamt-Cholesterin | bis 200 mg/dl | $160,0 \pm 4,8$ | $168,8 \pm 4,26$ |
| HDL | über 35 mg/dl | $51,75 \pm 2,43$ | $63,10 \pm 2,23$ |
| LDL | bis 180 mg/dl | $84,25 \pm 4,23$ | $89,96 \pm 3,79$ |
| Triglyceride | bis 180 mg/dl | $108,68 \pm 8,9$ | $88,21 \pm 5,34$ |
| Albumin | 3,6 - 5,0 g/dl | $4,57 \pm 0,17$ | n.b. |
| Protein | 6,5 - 8,7 g/dl | $7,48 \pm 0,28$ | n.b. |
| Kreatinin | ♂ < 1,20 mg/dl ♀ < 1,0 mg/dl | $0,77 \pm 0,04$ | n.b. |
| Harnstoff | 14 - 46 mg/dl | $17,59 \pm 1,55$ | n.b. |
| Selen | 0,94 - 1,77 μ mol/l | $0,64 \pm 0,04$ | n.b. |
| Zink | 10,1 - 18 μ mol/l | $11,08 \pm 0,96$ | n.b. |
| Phenylalanin | bis 20 mg/dl | $16,52 \pm 0,96$ | n.b. |
| Tyrosin | 0,6 - 1,8 mg/dl | $0,93 \pm 0,08$ | n.b. |

Angaben der Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM); n.b. = nicht bestimmt

Die erfassten Laborparameter lagen im Referenzbereich. Eine Ausnahme bildete Selen. Dieser Mittelwert lag mit $0,64 \pm 0,4 \mu\text{mol/l}$ unterhalb des Normbereiches ($0,94 - 1,77 \mu\text{mol/l}$), was für die weiterführenden Auswertungen zu Fettsäuren aber als nicht relevant eingestuft wird. Das Phenylalanin lag im Referenzbereich für erwachsene PKU-Patienten unter 20 mg/dl (Bremer HJ. et al., 1997) bei einem Mittelwert von $16,52 \pm 0,96 \text{ mg/dl}$.

Für einige der in Tabelle 6 genannten Laborwerte hat der Vergleich zwischen PKU-Patienten und Kontrollgruppe besondere Relevanz für diese Arbeit. Das Ergebnis der statistischen Auswertung für diese Werte wird in der folgenden Tabelle 7 gezeigt.

Tabelle 7: Vergleich der relevanten Laborparameter zwischen PKU-Gruppe und Kontrollgruppe

| | PKU-Gruppe n=43 (\pm SEM) | Kontrollgruppe n=58 (\pm SEM) | p-Wert |
|----------------------------|--|--|---------------|
| Gesamt-Cholesterin (mg/dl) | $160,0 \pm 4,8$ | $168,8 \pm 4,26$ | n.s. |
| HDL (mg/dl) | $51,75 \pm 2,43$ | $63,10 \pm 2,23$ | 0,003 |
| LDL (mg/dl) | $84,25 \pm 4,23$ | $89,96 \pm 3,79$ | n.s. |
| Triglyceride (mg/dl) | $108,68 \pm 8,9$ | $88,21 \pm 5,34$ | 0,017 |

Angaben der Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM); n.s. = nicht signifikant

Ein signifikanter Unterschied ergibt sich beim BMI. Dieser lag in der Gruppe der PKU-Patienten mit durchschnittlich $24,30 \pm 0,69 \text{ kg/m}^2$ signifikant über dem durchschnittlichen Wert in der Kontrollgruppe ($21,96 \pm 0,31 \text{ kg/m}^2$). Weitere signifikante Unterschiede konnten bei den Werten für Triglyceride und HDL festgestellt werden. Hier lagen die Triglyceride mit $108,68 \pm 8,9 \text{ mg/dl}$ ebenfalls in der Gruppe der PKU-Patienten signifikant höher. In der Referenzgruppe wurde ein Mittelwert von $88,21 \pm 5,34 \text{ mg/dl}$ gemessen. Das HDL lag in der Gruppe der PKU-Patienten im Mittelwert bei $51,75 \pm 2,43 \text{ mg/dl}$ und damit signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe mit $63,1 \pm 2,23 \text{ mg/dl}$.

Vergleich innerhalb der PKU-Gruppe:

Der BMI lag in der Substitutionsgruppe bei $24,06 \pm 2,84 \text{ kg/m}^2$. Ein mittlerer Blutdruck von $96,3 \pm 2,8 \text{ mmHg}$ wurde gemessen. In der Nicht-Substitutionsgruppe lag der Mittelwert des BMI bei $24,47 \pm 0,98 \text{ kg/m}^2$, der mittlere Blutdruck bei $98,0 \pm 2,3 \text{ mmHg}$.

Die folgende Tabelle 8 zeigt die erfassten Laborparameter innerhalb der PKU-Gruppe.

Tabelle 8: Laborparameter in der Substitutionsgruppe und der Nicht-Substitutionsgruppe

| | Referenzbereich | Substitutionsgruppe n=18 (\pm SEM) | Nicht-Substitutionsgruppe n=25 (\pm SEM) |
|--------------------|--|--|--|
| Natrium | 134 - 145 mmol/l | 140,06 \pm 0,58 | 140,65 \pm 0,35 |
| Kalium | 3,4 - 5,2 mmol/l | 3,65 \pm 0,24 | 4,04 \pm 0,77 |
| Calcium | 2,15 – 2,65 mmol/l | 2,44 \pm 0,02 | 2,44 \pm 0,02 |
| Chlorid | 95 – 112 mmol/l | 99,77 \pm 6,26 | 106,3 \pm 0,33 |
| Phosphor | 0,8 - 1,5 mmol/l | 1,22 \pm 0,28 | 0,95 \pm 0,04 |
| Magnesium | 0,75 – 1,06 mmol/l | 0,79 \pm 0,05 | 0,79 \pm 0,04 |
| Hb | ♂ 14,0 - 17,5 g/dl ♀ 12,3 - 15,3 g/dl | 15,09 \pm 0,32 | 14,7 \pm 0,2 |
| Thrombozyten | 150 - 400 /nl | 237,47 \pm 12,92 | 268,17 \pm 14,6 |
| Leukozyten | 4,5 – 11,0 /nl | 6,89 \pm 0,42 | 6,75 \pm 0,52 |
| Gesamt-Cholesterin | bis 200 mg/dl | 161,0 \pm 4,7 | 158,9 \pm 5,9 |
| HDL | über 35 mg/dl | 53,83 \pm 3,2 | 50,22 \pm 3,54 |
| LDL | bis 180 mg/dl | 83,23 \pm 5,67 | 85,00 \pm 6,15 |
| Triglyceride | bis 180 mg/dl | 112,7 \pm 14,45 | 105,7 \pm 11,43 |
| Albumin | 3,6 - 5,0 g/dl | 4,72 \pm 0,07 | 4,47 \pm 0,3 |
| Protein | 6,5 - 8,7 g/dl | 7,48 \pm 0,28 | 7,78 \pm 0,1 |
| Kreatinin | ♂ < 1,20 mg/dl ♀ < 1,0 mg/dl | 0,82 \pm 0,03 | 0,73 \pm 0,7 |
| Harnstoff | 14 - 46 mg/dl | 17,62 \pm 2,05 | 17,57 \pm 2,24 |
| Selen | 0,94 - 1,77 μ mol/l | 0,69 \pm 0,05 | 0,6 \pm 0,07 |
| Zink | 10,1 - 18 μ mol/l | 11,45 \pm 1,15 | 10,83 \pm 1,43 |
| Phenylalanin | bis 20 mg/dl | 16,72 \pm 1,2 | 16,37 \pm 1,41 |
| Tyrosin | 0,6 – 1,8 mg/dl | 1,19 \pm 0,16 | 0,75 \pm 0,07 |

Angaben der Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM)

Alle gemessenen Laborparameter lagen im jeweiligen Referenzbereich. Für einige der in Tabelle 8 genannten Laborwerte ist der Vergleich zwischen Substitutionsgruppe und

der Nicht-Substitutionsgruppe für diese Arbeit von besonderer Relevanz. Das Ergebnis der statistischen Auswertung für diesen Vergleich wird in der folgenden Tabelle 9 gezeigt.

Tabelle 9: Vergleich der relevanten Laborparameter innerhalb der PKU-Gruppe

| | Substitutions- gruppe n=18 (\pm SEM) | Nicht- Substitutions- gruppe n=25 (\pm SEM) | p-Wert |
|----------------------------|---|--|---------------|
| Gesamt-Cholesterin (mg/dl) | 161,0 \pm 4,7 | 158,9 \pm 5,9 | n.s. |
| HDL (mg/dl) | 53,83 \pm 3,2 | 50,22 \pm 3,54 | n.s. |
| LDL (mg/dl) | 83,23 \pm 5,67 | 85,00 \pm 6,15 | n.s. |
| Triglyceride (mg/dl) | 112,7 \pm 14,45 | 105,7 \pm 11,43 | n.s. |
| Phenylalanin (mg/dl) | 16,72 \pm 1,2 | 16,37 \pm 1,41 | n.s. |
| Tyrosin (mg/dl) | 1,19 \pm 0,16 | 0,75 \pm 0,07 | 0,039 |

Angaben der Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM); n.s. = nicht signifikant

Vergleicht man innerhalb der PKU-Gruppe die Labordaten der Substitutionsgruppe mit den Daten der Nicht-Substitutionsgruppe, so liegt hier ein signifikanter Unterschied beim Tyrosin vor.

3.3 Serumanalysen

Die Konzentrationen der Fettsäuren im Serum bei PKU-Patienten und in der Kontrollgruppe werden in folgender Tabelle 10 gezeigt.

Tabelle 10: Angabe der Serumlipide von PKU-Patienten und Kontrollgruppe

| | Name | Strukturformel | PKU-Patienten n=43 ±SEM | Kontrollgruppe n=58 ±SEM | p |
|-------------------------|------------------|----------------|----------------------------|-----------------------------|---------|
| gesättigte FS | Myristinsäure | 14:0 | 1,07 ± 0,48 | 1,16 ± 0,07 | n.s. |
| | Palmitinsäure | 16:0 | 23,8 ± 0,28 | 24,82 ± 0,26 | n.s. |
| | Stearinsäure | 18:0 | 7,51 ± 0,2 | 8,09 ± 0,15 | 0,025 |
| | Arachinsäure | 20:0 | 0,1 ± 0,01 | 0,09 ± 0,06 | n.s. |
| | Total: | | 32,48 ± 0,33 | 34,16 ± 0,32 | 0,002 |
| einfach ungesättigte FS | Palmitoleinsäure | 16:1 n-7 | 2,66 ± 0,15 | 2,49 ± 0,1 | n.s. |
| | Ölsäure | 18:1 n-9 | 23,66 ± 0,58 | 22,11 ± 0,36 | 0,025 |
| | | 18:1 n-7 | 0,05 ± 0,5 | 0,03 ± 0,04 | n.s. |
| | | 20:1 n-9 | 0,2 ± 0,2 | 0,2 ± 0,01 | n.s. |
| | | 22:1 n-9 | 0,13 ± 0,04 | 0,05 ± 0,01 | n.s. |
| | | 24:1 n-9 | 0,01 ± 0,01 | 0,05 ± 0,04 | n.s. |
| | Total: | | 26,71 ± 0,6 | 24,93 ± 0,39 | 0,019 |
| Omega-6-FS | Linolsäure | 18:2 n-6 | 21,94 ± 0,58 | 22,49 ± 0,56 | n.s. |
| | GLA | 18:3 n-6 | 0,4 ± 0,31 | 0,29 ± 0,02 | < 0,001 |
| | | 20:2 n-6 | 0,3 ± 0,1 | 0,27 ± 0,1 | n.s. |
| | | 20:3 n-6 | 2,11 ± 0,9 | 1,9 ± 0,05 | n.s. |
| | DGLA | 20:4 n-6 | 6,32 ± 0,18 | 6,62 ± 0,19 | n.s. |
| | | 22:2 n-6 | 0,69 ± 0,12 | 0,49 ± 0,06 | n.s. |
| | AA | 22:4 n-6 | 0,3 ± 0,01 | 0,25 ± 0,1 | < 0,001 |
| | | 22:5 n-6 | 0,25 ± 0,17 | 0,22 ± 0,01 | n.s. |
| | Total: | | 32,37 ± 0,6 | 32,53 ± 0,58 | n.s. |
| Omega-3-FS | LNA | 18:3 n-3 | 0,92 ± 0,06 | 0,66 ± 0,03 | 0,001 |
| | | 18:4 n-3 | 0,04 ± 0,01 | 0,21 ± 0,01 | < 0,001 |
| | | 20:3 n-3 | 0,07 ± 0,01 | 0,04 ± 0,04 | < 0,001 |
| | | 20:4 n-3 | 0,14 ± 0,01 | 0,11 ± 0,01 | 0,005 |
| | EPA | 20:5 n-3 | 0,63 ± 0,04 | 0,66 ± 0,34 | n.s. |
| | | 22:3 n-3 | 0,03 ± 0,01 | 0,05 ± 0,01 | 0,017 |
| | DPA | 22:5 n-3 | 0,66 ± 0,35 | 0,57 ± 0,2 | 0,033 |
| | DHA | 22:6 n-3 | 1,6 ± 0,7 | 2,2 ± 0,99 | < 0,001 |
| | Total: | | 4,09 ± 0,13 | 4,5 ± 0,12 | n.s. |

Angabe der Mittelwerte in Amount % mit ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM);
n.s. = nicht signifikant; statistische Signifikanz, wenn $p < 0,05$

Den höchsten Anteil haben die gesättigten Fettsäuren in beiden Gruppen mit 32,48 Amount % in der Gruppe der PKU-Patienten und 34,16 Amount % in der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied ist damit signifikant niedriger bei den PKU-

Patienten. Von den einzelnen untersuchten Fettsäuren ist eine signifikante Abweichung in den ermittelten Werten der Stearinsäure (18:0) festgestellt worden. Die Werte der PKU-Patienten lagen mit 7,51 Amount % signifikant niedriger.

Die Gruppe der Omega-6-Fettsäuren mit insgesamt 32,37 Amount % (PKU-Gruppe) und 32,53 Amount % (Kontrollgruppe) stellt den zweithöchsten Anteil an Fettsäuren dar. Der höchste absolute Wert wurde hier in beiden Gruppen bei der Linolsäure gemessen, gefolgt von der Arachidonsäure und Di-homo-Gamma-Linolensäure. Alle anderen Fettsäuren dieser Gruppe konnten nur in sehr kleinen Konzentrationen nachgewiesen werden. Es lassen sich signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen in den Konzentrationen der γ -Linolensäure (18:3 n-6) nachweisen, welche mit 0,4 Amount % in der Gruppe der PKU-Patienten erhöht ist und in der Kontrollgruppe einen Wert von 0,29 Amount % hat. Ähnliches gilt für die C22:4 n-6 Fettsäure. Auch hier lag eine signifikant höhere Konzentration bei den PKU-Patienten vor. Der Gesamtwert der Omega-6-Fettsäuren ist nicht signifikant abweichend.

Die einfach ungesättigten Fettsäuren liegen mit 26,71 Amount % signifikant höher in der Gruppe der PKU-Patienten vor. Dabei wurden bei der Palmitoleinsäure (16:1 n-7) und der Ölsäure (18:1 n-7) signifikant höhere Werte der PKU-Patienten ermittelt.

Unter den Omega-3-Fettsäuren war die Konzentration von Docosahexaensäure in beiden Gruppen am größten. Die restlichen Omega-3-Fettsäuren lagen in sehr geringen Konzentrationen vor. Der Gesamtwert der Omega-3-Fettsäuren ist nicht signifikant abweichend. Die Docosahexaensäure liegt aber als Omega-3-Fettsäure signifikant niedriger bei den PKU-Patienten mit 1,6 Amount % im Vergleich zu 2,2 Amount % in der Kontrollgruppe.

Das Verhältnis der Omega-3-Fettsäuren zu Omega-6-Fettsäuren liegt bei 1:8,41 Amount % bei den PKU-Patienten und bei 1:8,02 Amount % in der Kontrollgruppe. Für diese Abweichung konnte keine statistische Signifikanz festgestellt werden.

Tabelle 11: Angabe der Serumlipide innerhalb der PKU-Gruppe, unterteilt in Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe

| | Name | Strukturformel | Substitutionsgruppe n=18 ±SEM | Nicht Substituiert n=25 ±SEM | P |
|-------------------------|------------------|----------------|----------------------------------|---------------------------------|------|
| gesättigte FS | Myristinsäure | 14:0 | 1,1 ± 0,07 | 1,04 ± 0,06 | n.s. |
| | Palmitinsäure | 16:0 | 23,73 ± 0,48 | 23,86 ± 0,35 | n.s. |
| | Stearinsäure | 18:0 | 7,5 ± 0,34 | 7,51 ± 0,26 | n.s. |
| | Arachinsäure | 20:0 | 0,95 ± 0,01 | 0,09 ± 0,01 | n.s. |
| | total: | | 33,28 ± 0,5 | 32,5 ± 0,45 | n.s. |
| einfach ungesättigte FS | Palmitoleinsäure | 16:1 n-7 | 2,74 ± 0,26 | 2,64 ± 0,18 | n.s. |
| | Ölsäure | 18:1 n-9 | 24,51 ± 1,07 | 23,05 ± 0,64 | n.s. |
| | | 18:1 n-7 | n.n. | 0,08 ± 0,09 | n.s. |
| | | 20:1 n-9 | 0,19 ± 0,03 | 0,19 ± 0,03 | n.s. |
| | | 22:1 n-9 | 0,12 ± 0,05 | 0,14 ± 0,06 | n.s. |
| | | 24:1 n-9 | 0,01 ± 0,01 | n.n. | / |
| | total: | | 27,57 ± 1,09 | 26,1 ± 0,65 | n.s. |
| Omega-6-FS | Linolsäure | 18:2 n-6 | 21,4 ± 0,82 | 22,40 ± 0,81 | n.s. |
| | GLA | 18:3 n-6 | 0,38 ± 0,03 | 0,42 ± 0,05 | n.s. |
| | | 20:2 n-6 | 0,3 ± 0,18 | 0,31 ± 0,02 | n.s. |
| | | 20:3 n-6 | 2,06 ± 0,14 | 2,15 ± 0,1 | n.s. |
| | DGLA | 20:4 n-6 | 6,06 ± 0,28 | 6,49 ± 0,24 | n.s. |
| | | 22:2 n-6 | 0,56 ± 0,17 | 0,78 ± 0,17 | n.s. |
| | AA | 22:4 n-6 | 0,28 ± 0,01 | 0,32 ± 0,1 | n.s. |
| | | 22:5 n-6 | 0,25 ± 0,17 | 0,24 ± 0,02 | n.s. |
| | total: | | 31,29 ± 0,85 | 33,11 ± 0,8 | n.s. |
| Omega-3-FS | LNA | 18:3 n-3 | 0,97 ± 0,09 | 0,88 ± 0,08 | n.s. |
| | | 18:4 n-3 | 0,04 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | n.s. |
| | | 20:3 n-3 | 0,07 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01 | n.s. |
| | | 20:4 n-3 | 0,15 ± 0,1 | 0,13 ± 0,01 | n.s. |
| | EPA | 20:5 n-3 | 0,66 ± 0,06 | 0,61 ± 0,06 | n.s. |
| | | 22:3 n-3 | 0,04 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | n.s. |
| | DPA | 22:5 n-3 | 0,64 ± 0,05 | 0,68 ± 0,05 | n.s. |
| | DHA | 22:6 n-3 | 1,7 ± 0,14 | 1,5 ± 0,07 | n.s. |
| | total: | | 4,27 ± 0,19 | 3,94 ± 0,7 | n.s. |

Angabe der Mittelwerte in Amount % mit ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM);
n.s. = nicht signifikant; statistische Signifikanz, wenn $p < 0,05$; n.n. = nicht nachweisbar

Vergleich innerhalb der PKU-Gruppe:

In der Substitutionsgruppe liegt der Anteil der gesättigten Fettsäuren mit 33,28 Amount % am höchsten. In der Nicht-Substitutionsgruppe sind es hingegen die Omega-6-

Fettsäuren mit 33,11 Amount %, dann folgen erst die gesättigten Fettsäuren mit 32,5 Amount %. In beiden Gruppen dominiert in der Omega-6-Fettsäuregruppe die Linolsäure (18:2 n-6). Am dritthäufigsten kommen in beiden Gruppen die einfach ungesättigten Fettsäuren mit 27,57 Amount % in der Substitutionsgruppe bzw. 26,1 Amount % in der Nicht-Substitutionsgruppe vor. Hier ist der Anteil der Ölsäure 18:1 n-9 am größten. Den geringsten absoluten Wert weisen in beiden Gruppen die Omega-3-Fettsäuren mit 4,27 Amount % in der Substitutionsgruppe und 3,94 Amount % in der Nicht-Substitutionsgruppe auf. Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede der einzelnen Fettsäuren zwischen der PKU-Substitutionsgruppe und der Nicht-Substitutionsgruppe.

Das Verhältnis von Omega-3-Fettsäuren zu Omega-6-Fettsäuren beträgt 1:7,54 Amount % in der Substitutions-Gruppe und 1:9,03 Amount % in der Nicht-Substitutionsgruppe. Für diese Abweichung konnte keine statistische Signifikanz festgestellt werden.

3.4 Analyse der Erythrozytenmembranen

In der Analyse der Lipide der Erythrozytenmembran zeigt sich, dass der Anteil der gesättigten Fettsäuren sowohl bei PKU-Patienten als auch in der Kontrollgruppe am größten ist. In beiden Gruppen folgen die Omega-6-Fettsäuren. Einen großen Anteil daran hat die Arachidonsäure (20:4 n-6) mit mehr als 11 Amount % in beiden Gruppen. In der Gruppe der einfach ungesättigten Fettsäuren dominiert vor allem die Ölsäure (18:1 n-9). Den kleinsten Anteil bilden in beiden Gruppen die Omega-3-Fettsäuren. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen PKU-Gruppe und Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Untersuchung festgestellt werden.

Das Verhältnis der Omega-3-Fettsäuren zu Omega-6-Fettsäuren beträgt bei den PKU-Patienten 1:3,3 Amount % und in der Kontrollgruppe 1:3,26 Amount %.

Folgende Tabelle 12 zeigt die Angaben zu 26 Fettsäuren:

Tabelle 12: Angabe der Gesamtlipide der Erythrozytenmembran bei PKU-Patienten und Kontrollgruppe

| | Name | Strukturformel | PKU-Patienten n=31 ±SEM | Kontrollgruppe n=41 ±SEM | P |
|-------------------------|------------------|----------------|----------------------------|-----------------------------|-------------|
| gesättigte FS | Myristinsäure | 14:0 | 0,76 ± 0,07 | 0,73 ± 0,07 | n.s. |
| | Palmitinsäure | 16:0 | 21,8 ± 0,4 | 21,84 ± 0,32 | n.s. |
| | Stearinsäure | 18:0 | 15,87 ± 0,81 | 15,45 ± 0,66 | n.s. |
| | Arachinsäure | 20:0 | 0,27 ± 0,03 | 0,24 ± 0,02 | n.s. |
| | total: | | 38,7 ± 1,09 | 38,26 ± 0,9 | n.s. |
| einfach ungesättigte FS | Palmitoleinsäure | 16:1 n-7 | 0,56 ± 0,03 | 0,58 ± 0,02 | n.s. |
| | Ölsäure | 18:1 n-9 | 14,34 ± 0,63 | 14,35 ± 0,47 | n.s. |
| | | 18:1 n-7 | n.n | n.n. | n.s. |
| | | 20:1 n-9 | 0,26 ± 0,04 | 0,24 ± 0,04 | n.s. |
| | | 22:1 n-9 | 0,33 ± 0,07 | 0,37 ± 0,05 | n.s. |
| | | 24:1 n-9 | n.n | n.n. | n.s. |
| | total: | | 15,49 ± 0,58 | 15,54 ± 0,48 | n.s. |
| Omega-6-FS | Linolsäure | 18:2 n-6 | 8,76 ± 0,45 | 8,98 ± 0,39 | n.s. |
| | GLA | 18:3 n-6 | 0,03 ± 0,009 | 0,05 ± 0,009 | n.s. |
| | | 20:2 n-6 | 0,33 ± 0,03 | 0,28 ± 0,02 | n.s. |
| | | DGLA | 20:3 n-6 | 1,42 ± 0,08 | 1,34 ± 0,07 |
| | AA | 20:4 n-6 | 11,43 ± 0,64 | 11,39 ± 0,5 | n.s. |
| | | 22:2 n-6 | 0,74 ± 0,18 | 0,87 ± 0,21 | n.s. |
| | | 22:4 n-6 | 3,21 ± 0,23 | 3,25 ± 0,19 | n.s. |
| | | 22:5 n-6 | 0,46 ± 0,04 | 0,45 ± 0,03 | n.s. |
| | total: | | 26,38 ± 1,3 | 26,61 ± 1,07 | n.s. |
| Omega-3-FS | LNA | 18:3 n-3 | 0,2 ± 0,03 | 0,2 ± 0,14 | n.s. |
| | | 18:4 n-3 | 0,07 ± 0,02 | 0,04 ± 0,01 | n.s. |
| | | 20:3 n-3 | 0,54 ± 0,08 | 0,5 ± 0,08 | n.s. |
| | EPA | 20:4 n-3 | 0,18 ± 0,02 | 0,18 ± 0,02 | n.s. |
| | | 20:5 n-3 | 0,59 ± 0,04 | 0,62 ± 0,37 | n.s. |
| | | 22:3 n-3 | 0,45 ± 0,07 | 0,4 ± 0,04 | n.s. |
| | DPA | 22:5 n-3 | 1,96 ± 0,14 | 1,96 ± 0,12 | n.s. |
| | | DHA | 22:6 n-3 | 4,19 ± 0,15 | 4,5 ± 0,17 |
| | total: | | 8,18 ± 0,23 | 8,4 ± 0,21 | n.s. |

Angabe der Mittelwerte in Amount % mit ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM);
n.s. = nicht signifikant; statistische Signifikanz, wenn $p < 0,05$; n.n. = nicht nachweisbar

Vergleich innerhalb der PKU-Gruppe:

Beim Vergleich innerhalb der PKU-Gruppe zeigt sich ein ähnliches Bild. Der Anteil der gesättigten Fettsäuren ist am größten, gefolgt von den Omega-6-Fettsäuren. Auch ergeben sich hier keine signifikanten Unterschiede der einzelnen Fettsäuren zwischen der PKU-Substitutionsgruppe und der Nicht-Substitutionsgruppe. Das Verhältnis der Omega-3-Fettsäuren zu Omega-6-Fettsäuren liegt bei 1:3,45 Amount % in der Substitutionsgruppe und bei 1:3,02 Amount % in der Nicht-Substitutionsgruppe. Für diese Abweichung konnte keine statistische Signifikanz festgestellt werden.

Tabelle 13: Angabe der Gesamtlipide der Erythrozytenmembran in der PKU-Gruppe, unterteilt in Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe

| | Name | Strukturformel | Substitutionsgruppe (n=13) | Nicht-Substitutionsgruppe (n=18) | P |
|-------------------------|------------------|----------------|----------------------------|----------------------------------|------|
| gesättigte FS | Myristinsäure | 14:0 | 0,67 ± 0,09 | 0,83 ± 0,13 | n.s. |
| | Palmitinsäure | 16:0 | 21,18 ± 0,82 | 22,26 ± 0,37 | n.s. |
| | Stearinsäure | 18:0 | 14,5 ± 1,0 | 16,85 ± 1,17 | n.s. |
| | Arachinsäure | 20:0 | 0,22 ± 0,03 | 0,3 ± 0,04 | n.s. |
| | total: | | 36,57 ± 1,52 | 40,24 ± 1,46 | n.s. |
| einfach ungesättigte FS | Palmitoleinsäure | 16:1 n-7 | 0,6 ± 0,04 | 0,53 ± 0,04 | n.s. |
| | Ölsäure | 18:1 n-9 | 15,06 ± 0,86 | 13,89 ± 0,88 | n.s. |
| | | 18:1 n-7 | n.n | n.n. | n.s. |
| | | 20:1 n-9 | 0,32 ± 0,05 | 0,22 ± 0,06 | n.s. |
| | | 22:1 n-9 | 0,25 ± 0,04 | 0,38 ± 0,12 | n.s. |
| | | 24:1 n-9 | n.n | n.n. | n.s. |
| | total: | | 16,23 ± 0,8 | 15,02 ± 0,82 | n.s. |
| Omega-6-FS | Linolsäure | 18:2 n-6 | 9,5 ± 0,63 | 8,23 ± 0,61 | n.s. |
| | GLA | 18:3 n-6 | 0,04 ± 0,015 | 0,03 ± 0,012 | n.s. |
| | | 20:2 n-6 | 0,32 ± 0,04 | 0,33 ± 0,04 | n.s. |
| | | 20:3 n-6 | 1,51 ± 0,08 | 1,35 ± 0,11 | n.s. |
| | AA | 20:4 n-6 | 11,6 ± 0,81 | 11,3 ± 0,9 | n.s. |
| | | 22:2 n-6 | 1,15 ± 0,4 | 0,45 ± 0,208 | n.s. |
| | | 22:4 n-6 | 3,06 ± 0,31 | 3,32 ± 0,33 | n.s. |
| | | 22:5 n-6 | 0,44 ± 0,04 | 0,48 ± 0,06 | n.s. |
| | total: | | 27,62 ± 1,5 | 25,49 ± 1,95 | n.s. |
| Omega-3-FS | LNA | 18:3 n-3 | 0,2 ± 0,07 | 0,17 ± 0,02 | n.s. |
| | | 18:4 n-3 | 0,07 ± 0,02 | 0,07 ± 0,02 | n.s. |
| | | 20:3 n-3 | 0,55 ± 0,1 | 0,5 ± 0,12 | n.s. |
| | | 20:4 n-3 | 0,18 ± 0,04 | 0,18 ± 0,03 | n.s. |
| | EPA | 20:5 n-3 | 0,65 ± 0,06 | 0,56 ± 0,04 | n.s. |
| | | 22:3 n-3 | 0,48 ± 0,1 | 0,43 ± 0,09 | n.s. |
| | DPA | 22:5 n-3 | 2,0 ± 0,19 | 1,93 ± 0,2 | n.s. |
| | DHA | 22:6 n-3 | 4,03 ± 0,3 | 4,3 ± 0,17 | n.s. |
| | total: | | 8,13 ± 0,48 | 8,14 ± 0,23 | n.s. |

Angabe der Mittelwerte in Amount % mit ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM);
n.s. = nicht signifikant; statistische Signifikanz, wenn $p < 0,05$; n.n. = nicht nachweisbar

Alle Korrelationsanalysen erbrachten keine signifikanten Ergebnisse. Es wurden sämtliche Fettsäurenwerte der Serumanalysen und der Analyse der Erythrozytenmembranen mit dem BMI, den Ergebnissen der

Ernährungsprotokollauswertung und den Blutfettwerten korreliert. Auch die Korrelationsanalyse der dopplersonographischen Untersuchung der extrakraniellen Halsgefäße aus einer weiteren wissenschaftlichen Arbeit (Nee, 2008) erbrachten keine signifikanten Ergebnisse.

3.5 Ergebnisse aus den Ernährungsprotokollen

Die verminderte Aufnahme von natürlichem Eiweiß ist bei den PKU-Patienten gegenüber den Probanden zu erkennen. Der Nahrungsanteil des Eiweißes liegt bei 15 % der Energie, der Mittelwert über den Untersuchungszeitraum von 5 Tagen betrug 360,28 g. Davon wurden durchschnittlich 191,74 g Eiweiß über die Aminosäuremischungen substituiert, was täglich 38,35 g Eiweiß entspricht. In der Kontrollgruppe liegt der Wert für Eiweiß bei 405 g in den fünf Tagen. Insgesamt wurden von PKU-Patienten 10458,24 kcal in fünf Tagen aufgenommen, das sind pro Tag 2091,65 kcal. Etwas höher liegen diese Werte mit 10849,36 kcal (bzw. 2169,87 kcal pro Tag) in der Vergleichsgruppe. Der Anteil von Kohlenhydraten in der Ernährung der PKU-Patienten ist etwas erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe. In fünf Tagen werden 1600,4 g aufgenommen, das entspricht rund 57 % der Energie. In der Kontrollgruppe liegt dieser Wert bei 1336,33 g in fünf Tagen, das sind rund 51,83 % der aufgenommenen Gesamtenergie.

Tabelle 14: Auswertung der Ernährungsprotokolle für PKU-Patienten mit Aminosäuremischungen und der Kontrollgruppe

| | in 5 Tagen | | |
|---------------------------------------|----------------------|-----------------------|--------|
| | PKU-Patienten (n=21) | Kontrollgruppe (n=42) | p |
| kcal | 10458,24 ± 4902,05 | 10849,37 ± 3140,95 | n.s. |
| Eiweiß (gesamt) in g | 360,28 ± 183,41 | 405,13 ± 192,51 | n.s. |
| Kohlenhydrate in g | 1600,4 ± 762,25 | 1336,33 ± 392,9 | n.s. |
| Fett in g | 299,1 ± 130,1 | 387,6 ± 139,67 | 0,02 |
| Cholesterin in mg | 503,2 ± 459,15 | 1218 ± 511,62 | < 0,01 |
| einfach ungesättigte FS in g | 96,52 ± 50,49 | 126,23 ± 52,8 | n.s. |
| mehrfach ungesättigte Fettsäuren in g | 110,81 ± 281,21 | 52,27 ± 28,56 | n.s. |
| gesättigte FS in g | 84,63 ± 47,9 | 151,24 ± 60,62 | < 0,01 |
| <i>Nährstoffrelation</i> | | | |
| Eiweiß in % der Energie | 15,1 | 15,6 | n.s. |
| Kohlenhydrate in % der Energie | 57,15 | 51,83 | n.s. |
| Fett in % der Energie | 25,6 | 32,67 | <0,01 |

Angabe in Mittelwerten ± SEM; n.s.= nicht signifikant

Signifikante Unterschiede zeigen sich in einer höheren Gesamtfettaufnahme der Kontrollgruppe mit 387,6 g in fünf Tagen und dem dabei signifikant höheren Anteil an Cholesterin. Hier liegt der Wert mit 1218 g in fünf Tagen im Vergleich zu den PKU-Patienten fast doppelt so hoch. Ähnliches gilt für die Aufnahme von gesättigten Fettsäuren, welche bei 151,24 g in den fünf Tagen in der Kontrollgruppe liegt und nur bei 84,63 g in der PKU-Gruppe.

Vergleich innerhalb der PKU-Gruppe:

Beim Vergleich innerhalb der PKU-Gruppe fällt deutlich auf, dass die Patienten der Nicht-Substitutionsgruppe signifikant mehr kcal zu sich nahmen. Mit 13315,11 kcal in fünf Tagen sind das ca. 2663 kcal täglich. In der Substitutionsgruppe sind es nur 8315,58 kcal in fünf Tagen, also 1663 kcal täglich. Es lässt sich auch eine etwas höhere Eiweißaufnahme in der Nicht-Substitutionsgruppe feststellen. Signifikant höher ist die Kohlenhydrataufnahme in der Nicht-Substitutionsgruppe, das sind rund 413 g Kohlenhydrate täglich (2064,78 g in fünf Tagen). Im Vergleich dazu wurden von den PKU-Patienten der Substitutionsgruppe nur ca. 1220 g in fünf Tagen (bzw. 244 g täglich) aufgenommen.

Tabelle 15: Auswertung der Ernährungsprotokolle für PKU-Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe

| | Substitutionsgruppe | in 5 Tagen Nicht- Substitutionsgruppe | p |
|---------------------------------------|---------------------|---|-------|
| kcal | 8315,58 ± 1328,41 | 13315,11 ± 1286,23 | 0,013 |
| Eiweiß (gesamt) in g | 320,76 ± 54,9 | 412,94 ± 56,67 | n.s. |
| Kohlenhydrate in g | 1220,45 ± 23,3 | 2064,78 ± 202,91 | 0,011 |
| Fett in g | 282,45 ± 40,43 | 319,44 ± 43,3 | n.s. |
| Cholesterin in mg | 407,9 ± 105,41 | 619,67 ± 188,6 | n.s. |
| einfach ungesättigte FS in g | 83,33 ± 14,45 | 112,63 ± 17,17 | n.s. |
| mehrfach ungesättigte Fettsäuren in g | 161,29 ± 114,26 | 49,11 ± 7,21 | n.s. |
| gesättigte FS in g | 72,95 ± 10,10 | 98,91 ± 20,07 | n.s. |
| <i>Nährstoffrelation</i> | | | |
| Eiweiß in % der Energie | 16,9 | 12,89 | n.s. |
| Kohlenhydrate in % der Energie | 54,54 | 60,33 | n.s. |
| Fett in % der Energie | 28,45 | 22,11 | n.s. |

Angabe in Mittelwerten ± SEM; n.s.= nicht signifikant

4 DISKUSSION

4.1 Methodik

4.1.1 Untersuchungskollektiv und Studiendesign

In dieser Studie wurden 43 PKU-Patienten untersucht. Damit ist das Untersuchungskollektiv größer als in anderen bisher veröffentlichten Studien mit PKU-Patienten (siehe Tabelle 16). Für die wesentlichen Aufgaben der Arbeit und die Untersuchungsziele dieser Studie war die Anzahl der untersuchten PKU-Patienten ausreichend, die statistische Aussagefähigkeit dafür konnte bestätigt werden. Für darüber hinaus gehende Fragestellungen wäre weiterführend eine noch größere Anzahl an untersuchten PKU-Patienten wünschenswert. Aufgrund der geringen Häufigkeit der Erkrankung in der Bevölkerung müsste dies in Form einer größeren Multicenter-Studie passieren. Mit Blick auf das Ernährungsverhalten, und hierbei insbesondere auf die längerfristige Einnahme von Aminosäuremischungen mit Zusatz von mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wäre auch eine Langzeitstudie sinnvoll.

4.1.2 Probenverarbeitung und Analytik

Vor der Analyse der Fettsäuren im Gaschromatographen wurde ein Methylierungsschritt mit Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH) vollzogen, so dass Fettsäuremethylester (FAME) zur gaschromatographischen Trennung gebildet wurden. Dabei ist zu bedenken, dass freie Fettsäuren nur zu etwa 70 – 80 % verestert werden. Es ist bekannt, dass die Affinität der Fettsäuren aufgrund unterschiedlicher funktioneller Gruppen zum TMSH verschieden ist. Lipide, welche Hydroxy-Gruppen (OH-Gruppe) enthalten (beispielsweise aus der Erythrozytenmembran), werden bei der Methylierung mit TMSH teilweise zu O-Dimethylester Derivaten umgewandelt. Diese können die gaschromatographische Bestimmung der FAME beeinflussen (Vosmann et al., 1996). Alle Proben in dieser Studie wurden in gleicher Weise mit TMSH vor der Analyse behandelt.

Grundsätzlich ist es angebracht, die Aufarbeitung der Proben und die gaschromatographische Messung im selben Labor durchzuführen. Eine kontinuierliche Kühlung der Proben auf Trockeneis konnte für den gesamten Transport sichergestellt werden. Aufgrund der technischen Ausstattung und Erfahrung in der gaschromatographischen Analyse von Fettsäuremethylestern wurde das

ernährungswissenschaftliche Institut der Universität Halle-Wittenberg gewählt. Mögliche Fehler bei der Probenaufarbeitung wurden so gering wie möglich gehalten. Hierzu zählt die Inkonstanz des "Split", also des prozentualen Anteils der Probe, der auf die Kapillarsäule gelangt. Des Weiteren sind kleinste Verunreinigungen oder Änderungen der Umgebungsverhältnisse wie Lufttemperatur, Luftfeuchtigkeit oder Luftdruck zu nennen, die zu Messungenauigkeiten und Schäden an empfindlichen elektronischen Bauteilen führen können. Ein erfahrener Labormitarbeiter führte die Analyse der Fettsäurenmethylester durch.

4.1.3 Ernährungsprotokoll

Bei der Erhebung von Ernährungsdaten mit Hilfe von Ernährungsprotokollen ist zu berücksichtigen, dass die ausgefüllten Protokolle Abweichungen hinsichtlich der Quantität der beurteilten Nahrungsaufnahme enthalten können. Die Mengen werden in gewöhnlichen Haushaltsgrößen angegeben und in standardisierten Portionsgrößen in der Software weiterverarbeitet. Die spezielle eiweißarme Ernährungssituation der PKU-Patienten fand Berücksichtigung in einem dafür entworfenen Zusatzprotokoll für eiweißarme Lebensmittel, um diese genügend abzubilden.

Eine mögliche Fehlerquelle bezüglich der Ernährungserfassung durch selbst geführte Protokolle liegt im so genannten "underreporting". In mehreren Studien wurde die Brennwertaufnahme untersucht, die mit Hilfe eines Ernährungstagebuches erfasst wurde. Diese Angaben wurden mit Messungen der verbrauchten Energie durch die doppelt gelabelte Wassermethode verglichen. Bei der doppelt gelabelten Wassermethode wird ein Isotopentracer gemischt venös injiziert und aus dem Anstieg der 2H - und 18O -Konzentrationen und dem Körperwasserpool wird die CO_2 -Produktion errechnet. Dabei ergab sich eine große Diskrepanz zwischen selbst dokumentierter Energiemenge und dem tatsächlich gemessenen Energieverbrauch. Eine zu geringe Angabe an Nahrungsmitteln bei Befragungen und selbst geführten Ernährungserhebungen wird deshalb vermutet und als "underreporting" bezeichnet (Riumallo et al., 1989, Bandini et al., 1990).

4.2 Einordnung und Diskussion der Ergebnisse

Es wurde ein direkter Vergleich der Fettsäuren im Serum und in der Erythrozytenmembran von PKU-Patienten und gesunden Probanden in der vorliegenden Arbeit gezeigt. Die Analyse der Fettsäuren im Serum stellt dabei einen

aktuellen Messwert dar und weist signifikant niedrigere Konzentrationen von vier Fettsäuren in der PKU-Gruppe auf. Hiervon ist vor allem die signifikante Abweichung der Fettsäure DHA (Docosahexaensäure, 22:6 n-3) für die Aufgabenstellung dieser Arbeit von Relevanz. Die Aufnahme dieser mehrfach ungesättigten und langkettigen Fettsäure erfolgt normalerweise fast ausschließlich über fetthaltigen Seefisch, nicht jedoch über Molkeprodukte. Diese maritime Quelle fällt bei den PKU-Patienten aufgrund der speziellen Ernährungssituation weg. So ist zu vermuten, dass dieser relativ geringe Anteil von DHA im Serum der PKU-Patienten aus Eigensyntheseleistung stammt.

Bereits 1991 zeigte eine Arbeitsgruppe um Galli, dass signifikant niedrigere Werte der Omega-3-Fettsäure DHA im Plasma bei an PKU erkrankten Kindern im Vergleich zu einer Gruppe gesunder Kinder nachzuweisen war (Galli et al., 1991). 1994 und 1998 folgten ähnliche Studien, in denen außerdem gezeigt wurde, dass der Mangel an Omega-3-Fettsäuren bei kindlichen PKU-Patienten auf die diätischen Einschränkungen zurückzuführen ist (Sanjurjo et al., 1994, Pöge et al., 1998). Giovanni et al. kamen 1996 zu dem Schluss, dass eine gute Compliance bezüglich der PKU-Diät negative Einflüsse auf den Status der langkettigen Fettsäuren und die Abgabe von Serum-Eicosanoiden aus den Thrombozyten hat (Giovannini et al., 1996). Dabei ist auch festzustellen, dass diese Plasmakonzentrationen von DHA und der Arachidonsäure (AA) bei den untersuchten PKU-Patienten noch niedriger lagen als bei gesunden Vegetariern mit gleichen Anteilen der Ausgangsubstanzen Linolsäuren und α -Linolensäure und sehr ähnlicher Ernährungsweise (Melchert, 1987). Im Minireview aus der Arbeitsgruppe von Juan P. Infante wird vermutet, dass diese Unterschiede nicht nur durch eine niedrigere Aufnahme dieser Fettsäuren zustande kommen, sondern auch möglicherweise Folge der höheren Phenylalanin-Konzentrationen und deren Stoffwechselprodukten Phenylmilchsäure und Phenylbrenztraubensäure im Blut sind. Dies könnte auch der Fall bei diätisch behandelten PKU-Patienten sein. Ebenfalls wird in verschiedenen Studien festgestellt, dass die Konzentration von DHA deutlicher erniedrigt ist als die Konzentration von AA (Infante und Huszagh, 2001). Eine mögliche Erklärung für den stärkeren Abfall von DHA könnte in einem Mangel an dem Kofaktor α -Tocopherolchinon (α -TQ, im Serum dominierender Vertreter der Vitamin-E Gruppe) liegen. Dieser Kofaktor katalysiert die Fettsäuredesaturasen des mitochondrialen, carnitinabhängigen Weges und kann zu einer mangelnden Synthese von DHA führen (Infante und Huszagh, 2001). Es wird angenommen, dass andere langkettige Fettsäuren (wie beispielsweise AA) über einen mikrosomalen Weg der Fettsäure-Desaturation-

Elongation produziert werden können. Dieser wird kompensatorisch aktiviert, wenn ein Vitamin-E-Mangel vorliegt (Infante, 1999).

Anhand folgender Tabelle sollen die Ergebnisse anderer Publikationen mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit verglichen werden. Es werden drei der wichtigsten und essentiellen Fettsäuren dabei beispielhaft betrachtet:

Tabelle 16: Vergleich der Ergebnisse bisheriger Arbeiten mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit: ausgewählte Fettsäuren im Serum und in der Erythrozytenmembran

| | Vorliegende Studie (D) | Galli et al. 1991 (Italien) | Sanjurjo et al. 1994 (Spanien) | Acosta et al. 2001 (USA) | Moseley et al. 2002 (USA) |
|--------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Allgemeine Angaben im Ø | | | | | |
| • Alter der Patienten (Jahre) | 28,1 | 3 – 12 | 7 | 2,9 (Phenex-1,-2) | 22,6 |
| • Phe-Wert (mg/dl) | 16,52 | 6,28 | n.a. | n.a. | 13,7 |
| • HDL (mg/dl) | 51,57 | 47 | n.a. | n.a. | 41,5 |
| • LDL (mg/dl) | 84,25 | n.a. | n.a. | n.a. | 97,7 |
| • Fettgehalt der Nahrung (%) | 25,6 | 24,3 | 42 | 30,4 | n.a. |
| Ausgewählte Fettsäuren | | | | | |
| a) im Serum | (Amount % aller FS) | (% aller FS) | (g/100g) | (g/100g) | (% aller FS) |
| Anzahl der Proben | 43 | 15 | 40 | 13 (Phenex-1, -2) | 27 |
| • AA | 6,32 | 4,39 * <0,005 | 7,29 * <0,05 | 10,62 | 6,35 * <0,001 |
| • EPA | 0,63 | 0,24 * <0,05 | 0,49 | 0,38 | 0,3 * <0,001 |
| • DHA | 1,6 * <0,001 | 0,51 * <0,01 | 0,92 * <0,001 | 1,65 | 1,14 * <0,001 |
| b) in der Erythrozytenmembran | (Amount % aller FS) | (% aller FS) | (g/100g) | (g/100g) | (% aller FS) |
| Anzahl der Proben | 31 | 15 | 40 | 12 (Phenex-1,-2) | 25 |
| • AA | 11,43 | 11,82 | 14,71 * <0,001 | 6,22 | 15,51 |
| • EPA | 0,59 | 0,32 | 0,21 * <0,001 | 0,17 | 0,3 * 0,001 |
| • DHA | 4,19 | 0,99 | 2,02 * <0,001 | 0,77 | 2,91 * 0,013 |

* Angabe der signifikanten Werte in der jeweiligen Studie mit Signifikanzniveau;
n.n. = nicht nachweisbar; n.a. = nicht angegeben

Auf den ersten Blick fällt in Tabelle 16 besonders das unterschiedliche Durchschnittsalter der PKU-Patienten auf. Die Patienten in der vorliegenden Arbeit waren die ältesten, gefolgt von den Patienten aus der Studie von Moseley et al. Die Grenzwerte für Phenylalanin sind für ältere Patienten höher, so dass sie in diesen beiden Studien mit in einem höheren Niveau toleriert werden konnten.

Die Ergebnisse der Fettsäureanalysen aus der vorliegenden Arbeit sind mit den oben gezeigten Studien vergleichbar und liegen im gleichen Rahmen. Die Anzahl der analysierten Proben ist in der hier vorliegenden Arbeit größer. In den meisten Studien werden auch signifikant niedrige Werte für die Fettsäure DHA im Serum beschrieben. Eine Ausnahme bildet die Arbeit aus der Arbeitsgruppe Acosta et al. aus dem Jahr 2001. In dieser Studie wurden keine signifikanten Unterschiede bei den untersuchten PKU-Patienten und deren gesunden Geschwistern (als Kontrollgruppe) gemessen. Es wird vermutet, dass abgesehen von den tierischen Produkten, welche von den gesunden Geschwistern konsumiert wurden, die PKU-Patienten und ihre Geschwister aufgrund einer sonst ähnlichen Ernährung die gleichen Arten von Fetten zu sich nahmen und deshalb die Unterschiede gering waren.

Statistisch signifikante Unterschiede bei Analysen der Erythrozytenmembranen finden sich in den Studien von Sanjurjo et al. und Moseley et al. In der spanischen Arbeit von Sanjurjo et al. lag dabei auch die Konzentration der Arachidonsäure in der Erythrozytenmembran mit 14,71 g/ 100 g FS signifikant niedriger als in der Vergleichsgruppe. Dies ließ sich in keiner weiteren der gezeigten Studie finden. Eine mögliche Erklärung wird in der relativ hohen Zufuhr von Linolsäure als Ausgangssubstanz für die Omega-6-Fettsäuren und in dem möglicherweise erleichterten Einbau von AA in die Erythrozytenmembran bei PKU-Patienten gesehen.

Zu bedenken ist, dass die anderen oben gezeigten Arbeiten nicht in Deutschland und an PKU-Patienten jüngeren Alters durchgeführt wurden. Hinsichtlich der Bewertung der Vergleichbarkeit der Studien ist der geographische Aspekt aufgrund unterschiedlicher Ernährungsweisen zu berücksichtigen. In den mediterranen Ländern wird ein hoher Anteil an Olivenöl (besonders reich an Omega-6-Fettsäuren) in der Nahrung verwendet, was zu einer Veränderung der Fettsäurenprofile zugunsten der Omega-6-Fettsäure-Familie führen kann. Die übliche Ernährungsweise ist in diesen Ländern im allgemeinen arm an gesättigten Fetten und reich an Gemüse und Fisch, so dass auch andere Gewohnheiten bei der Auswahl an Nahrungsmittel bei PKU-Patienten in diesen Ländern vermutet werden können (neben dem Fischverzehr).

Ein besonders hoher Fettanteil mit hohem Anteil an gesättigten Fettsäuren ist typisch für die Ernährungsweise der amerikanischen Bevölkerung. Dies gilt vermutlich auch für die amerikanischen PKU-Patienten. Die PKU-Patienten aus der Phenex-Gruppe in der Studie von Acosta et al. nehmen 30,4 % der täglichen Energie als Fett zu sich. Dieser Fettanteil liegt höher als in der hier vorliegenden Arbeit (25,6 % als Fett der täglichen

Energiezufuhr) und in der Studie aus Italien von Galli et al. (24,3 %). All das kann zu einem veränderten Fettsäureprofil führen und spiegelt sich möglicher Weise in den gezeigten Ergebnissen wider. In Deutschland sind bislang keine weiteren Arbeiten zur Versorgung mit Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren bei erwachsenen PKU-Patienten erschienen.

Die Ernährungssituation der PKU-Patienten in Deutschland lässt sich aber mit der Studie von Schulz und Bremer näher beleuchten. In der Altersgruppe über 19 Jahre mit täglicher Einnahme der Aminosäuremischungen sind 16 weibliche und 12 männliche PKU-Patienten untersucht worden. Die männlichen Patienten nahmen durchschnittlich 2306 kcal/d auf, die weiblichen Patienten 1852 kcal/d. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie lagen bei 2091 kcal/d, was gut zu den Ergebnissen aus der Arbeit von Schulz und Bremer passt. Interessant ist, dass die tägliche Proteinaufnahme (mit Aminosäuremischungen) bei den hier untersuchten Patienten im Durchschnitt bei 72 g/d liegt und damit höher ist als in der Studie von Schulz und Bremer mit 52,2 g/d (Patientinnen) bzw. 62,2 g/d (Patienten). Möglicherweise ist eine höhere individuelle Restaktivität der PAH dafür verantwortlich, wodurch bei den hier untersuchten Patienten eine höhere tägliche Proteinaufnahme möglich gewesen ist. Die tägliche Fettaufnahme der hier untersuchten PKU-Patienten liegt mit 25,6 % der täglichen Energie in einem ähnlichen Bereich wie die Werte aus der anderen Arbeit mit 29 % (Patientinnen) bzw. 27 % (Patienten) (Schulz und Bremer, 1995). Von der deutschen Gesellschaft für Ernährung wird eine tägliche Fettzufuhr von 30 % der Tagesenergiezufuhr empfohlen, so dass die PKU-Patienten in beiden Studien knapp darunter liegen. Dies ist bei überwiegend sitzender Tätigkeit und etwas geringerem Kalorienverbrauch des untersuchten Kollektivs eher als günstig zu bewerten. Insgesamt lag in dieser Arbeit die tägliche Fettzufuhr in der Gruppe der PKU-Patienten signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Besonders betont sei dabei, dass bei den PKU-Patienten der Anteil an gesättigten Fettsäuren in der Nahrung signifikant niedriger lag. Der Grund ist vermutlich in dem verminderten Konsum an tierischen Lebensmitteln in der PKU-Diät zu sehen. Dies spiegelt sich auch im Fettsäureprofil für gesättigte Fettsäuren im Serum wider. Der Anteil der Kohlenhydrate in der Ernährung der PKU-Patienten ist aufgrund des leicht geminderten Fettanteils in der hier vorliegenden Studie mit rund 57 % der täglichen Energie höher als bei normaler Ernährung.

Etwas überraschend ist die Tatsache, dass bei den PKU-Patienten der Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Ernährungsprotokollen signifikant höher lag als in der Kontrollgruppe. Dies kann möglicher Weise an der Art der verwendeten Fette liegen, denn viele PKU-Patienten nehmen hauptsächlich Margarine und pflanzliche Öle mit einem relativ hohen Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu sich. Da in der Auswertung von Fettsäuren mit dem verwendeten Softwareprogramm zum Teil Fettsäuren zusammengefasst wurden (siehe Herstellerangaben unter 2.4), kann hier nicht eindeutig identifiziert werden, welche mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Einzelnen dafür verantwortlich sind. Der insgesamt deutlich höhere absolute Anteil der Omega-6-Fettsäuren an den mehrfach ungesättigten Fettsäuren lässt aber darauf schließen, dass hier vermutlich die Ursache zu suchen ist.

Die Ernährung der Kontrollgruppe entspricht in vielen Punkten den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung. Diese fordert, 15 % der täglichen Energieaufnahme über Proteine zu decken, was hier erfüllt wurde. Die Zufuhrmenge für Fette haben mit 32,67 % der täglichen Energieaufnahme die Empfehlungen etwas überschritten, dabei ist vor allem der Anteil an gesättigten Fetten zu hoch. Die tägliche Kohlenhydrataufnahme liegt etwas niedriger mit 51,83 % der täglich aufgenommenen Energie.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen keine Anzeichen für ein erhöhtes Herz-Kreislauf-Risiko erkennen (Nee, 2008), was mit zunehmendem Alter gut überwacht und in nachfolgenden Studien weiter untersucht werden muss. Auch wenn signifikant niedrigere Werte für das HDL-Cholesterin und signifikant erhöhte Werte für die Triglyceride in der Gruppe der PKU-Patienten gefunden worden sind, liegen die Mittelwerte für das HDL (51,75 mg/dl) und die Triglyceride (108,68 mg/dl) noch im akzeptablen Referenzbereich. Ähnliches gilt für den BMI, welcher bei den PKU-Patienten signifikant höher lag als in der Kontrollgruppe, sich aber mit 24,3 kg/m² noch in einem tolerablen Bereich bewegt. Möglicherweise ist eine zu geringe körperliche Bewegung für einen höheren BMI der PKU-Patienten verantwortlich. In folgenden Studien wären die Evaluation der körperlichen Fitness der PKU-Patienten und die Messung der Körperzusammensetzung mit Hilfe der bioelektrischen Impedanzmessung zur genauen Bestimmung von Fettmasse, Muskelmasse und Wasseranteil sinnvoll.

4.3 Ist die zusätzliche Substitution mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren bei erwachsenen PKU-Patienten effektiv?

Viele Studien tragen bis heute zur Diskussion bei, ob, wie viel, wie lange und in welchem Alter die Ernährung der PKU-Patienten mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren zusätzlich ergänzt werden sollte.

An dieser Stelle ist ein Blick in die hier vorliegenden Daten zur Auswertung innerhalb der Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe der erwachsenen PKU-Patienten im Ergebnisteil sinnvoll. Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede in den Fettsäurenprofilen des Serums und in den Fettsäurenprofilen der Erythrozytenmembranen feststellen. Insofern liegt die Vermutung nahe, dass die hier gezeigte Substitution von Aminosäuremischung mit Zusätzen von mehrfach ungesättigten Fettsäuren nicht ausreichend war. Möglich ist, dass die Aminosäuremischungen mit diesen Zusätzen nicht regelmäßig genug eingenommen wurden. Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren diese Aminosäuremischungen mit Zusätzen von mehrfach ungesättigten Fettsäuren für erwachsene PKU-Patienten erst einige Monate auf dem Markt in Deutschland erhältlich und deshalb noch nicht so routiniert in die Anwendung integriert. Auch kann der Anteil an substituierten mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den verwendeten Aminosäuremischungen zu niedrig dosiert sein (16,5 % Omega-6-Fettsäuren, 4,43 % Omega-3-Fettsäuren) und damit ein zu geringer Anteil ins Blut aufgenommen werden. Zu hinterfragen ist zudem, ob bei ausreichender Aufnahme von den genannten Zusätzen die vermutete Wirkung im Organismus überhaupt in vollem Umfang zum Tragen kommt. Eine erneute Untersuchung von PKU-Patienten nach Einnahme von Aminosäuremischungen mit Zusätzen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren über einen längeren Zeitraum wäre sicher sinnvoll. So könnte im Vergleich mit den hier ermittelten Fettsäurenwerten eine Aussage getroffen werden, ob die Fettsäurenprofile in der Langzeitanwendung eine Veränderung zeigen.

Die Compliance der hier untersuchten PKU-Patienten kann als ausreichend angesehen werden, da die geforderten Grenzen der Phenylalanin-Werte für erwachsene PKU-Patienten in Deutschland (nach APS Empfehlung) während des gesamten Zeitraumes der Studie eingehalten wurden. Dabei ist zu bedenken, dass diese Empfehlungen für einen Phenylalanin-Wert von 0,7 – 20 mg/dl bei PKU-Patienten über 15 Jahre in Deutschland im weltweiten Vergleich relativ hoch liegt. In Tschechien, Ungarn und

Slowenien wird eine Grenze von < 15 mg/dl empfohlen. In Großbritannien und den USA liegt diese Empfehlung noch niedriger mit 11,7 mg/dl bzw. 12 mg/dl. In Dänemark liegt die Empfehlung für PKU-Patienten über 18 Jahren bei einem Phenylalanin-Wert von <25 mg/dl und damit höher als in Deutschland (Schweitzer-Krantz, 2000).

Es gibt eine ganze Reihe von Studien, in denen der Erfolg einer Ergänzung mit verschiedenen Fettsäuren bei PKU-Patienten jüngerer Alters untersucht wurde. In einer Arbeit konnte 1995 der Anstieg von Omega-3-Fettsäuren im Serum und die Abnahme von Triglyceriden im peripheren Blut durch Supplementierung mit Fischöl bei PKU-Patienten (Kindern) gezeigt werden (Agostoni et al., 1995). 2001 konnten Agostoni et al. in einer doppel-blinden Placebo-Kontrollierten Studie mit 20 PKU-Kindern im Schulalter zeigen, dass eine ausgewogene Supplementation mit langkettigen Fettsäuren (4,6 % γ -Linolensäure, 7,4 % AA, 5,5 % EPA und 8 % DHA) die Konzentration von DHA in den Plasma-Phospholipiden und in den Erythrozyten erhöht, ohne die Konzentration von AA zu beeinflussen (Agostoni et al., 2001). Sehr interessant sind die Ergebnisse aus der Arbeitsgruppe von Rose (2005) und die darauf folgenden Fettsäureanalysen von Cleary et al. aus dem Jahr 2006. An dieser Studie nahmen 43 PKU-Patienten im Kindesalter teil. Die Test-Gruppe (24 PKU-Patienten) erhielt Aminosäuremischungen mit Zusätzen von essentiellen ungesättigten Fettsäuren (17,2 g/ 100 g FS Linolsäure und 4,5 g/ 100 g FS α -Linolensäure) und die Kontrollgruppe bekam die Aminosäuremischungen ohne Zusätze von Fettsäuren. Insgesamt lief die Untersuchung über einen Zeitraum von 20 Wochen. Am Ende wurde zur genaueren Erfassung der Ernährung 3 Tage lang die Hälfte der Essensportionen gesammelt und später analysiert. Eine signifikant geringere Aufnahme von Gesamtfetten und α -Linolensäure in der Kontrollgruppe konnte nachgewiesen werden. Die Testgruppe zeigte eine höhere Gesamtfettaufnahme und höhere Aufnahme von mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit einem günstigeren Verhältnis von Linolsäure zu α -Linolensäure. Es konnte festgestellt werden, dass Fett in der PKU-Diät unter Berücksichtigung eines möglichst optimalen Verhältnisses von Linolsäure zu α -Linolensäure vorsichtig gegeben werden sollte (Rose et al., 2005). Die Analyse der Phospholipide der Erythrozytenmembran zeigte in der Test-Gruppe einen signifikanten Anstieg von DHA nach 20 Wochen. In dieser Studie wurde damit zum ersten Mal der positive biochemische Effekt von einer Supplementation mit essentiellen Fettsäuren anstelle von vorgeformten mehrfach

ungesättigten Fettsäuren (Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren) bei Kindern mit PKU gezeigt (Cleary et al., 2006).

Dass eine Ergänzung mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem ausgewogenen Verhältnis sinnvoll zu sein scheint, konnte in mehreren Studien belegt werden. Welche Fettsäuren und wie viel dabei substituiert werden sollte, ist zum einen von regional unterschiedlichen Ernährungsweisen und der damit verbundenen veränderten Fettzusammensetzung der Nahrung und zum anderen davon, was mit dieser Substitution erreicht werden soll, abhängig. Die oben beschriebenen Ergebnisse betreffen vor allem PKU-Patienten im Kindes- und Jugendalter und sind nur eingeschränkt auf Erwachsene übertragbar. Mit heutigem Kenntnisstand lässt sich nicht beantworten, ob eine zusätzliche Substitution mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren bei erwachsenen PKU-Patienten effektiv ist und sollte deshalb in weiteren Studien untersucht werden.

5 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde ein direkter Vergleich der Fettsäuren im Serum und in der Erythrozytenmembran von 43 erwachsenen PKU-Patienten und 58 gesunden Probanden in Deutschland gezeigt. Dabei wurden signifikante Unterschiede im Serum bei insgesamt 11 Fettsäuren gefunden, wovon vier signifikant niedriger bei den PKU-Patienten vorlagen. Drei der signifikant in niedrigerer Konzentration vorliegenden Fettsäuren waren Omega-3-Fettsäuren. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den PKU-Patienten und der Kontrollgruppe in den Analysen der Erythrozytenmembranen festgestellt werden.

Als wichtigstes Ergebnis konnte die signifikant niedrige Konzentration von DHA (Docosahexaensäure, 22:6 n-3) im Serum bei PKU-Patienten nachgewiesen werden, was bereits in früheren Studien an jüngeren PKU-Patienten erwähnt wird (Galli et al., 1991, Sanjurjo et al., 1994). Dieses Ergebnis ist letztlich das Resultat einer mangelhaften Aufnahme von DHA mit der Nahrung (bedingt durch die PKU-Diät), stoffwechselbedingter Ungleichgewichte durch höhere Phenylalanin-Konzentrationen, der Beeinflussung von Desaturasen- und Elongasen-Enzymen durch höhere Zufuhrmengen von Omega-6-Fettsäuren und von einem möglichen Mangel an α -Tocopherolchinon.

Es konnte gezeigt werden, dass die hier untersuchten erwachsenen PKU-Patienten ein nur gering verändertes Fettsäurenprofil gegenüber gesunden Erwachsenen aufweisen und damit nicht durch ihre diätischen Einschränkungen im Fettsäurenstatus benachteiligt sind. Ferner konnte zum Zeitpunkt der Untersuchung kein erhöhtes Herz-Kreislauf- Risiko aufgrund eines veränderten Fettsäurenprofils festgestellt werden.

Außerdem wurde die Substitution von Aminosäuremischungen mit Zusätzen von mehrfach ungesättigten Fettsäuren untersucht. In der "Substitutionsgruppe" wurden 18 PKU-Patienten zusammengefasst, die mindestens einmal täglich solche Aminosäuremischung zu sich nahmen. Die "Nicht-Substitutionsgruppe" umfasst 25 PKU-Patienten, welche Aminosäuremischungen ohne diese Zusätze zu sich nahmen. In der Analyse der Fettsäurenprofile im Serum und in den Erythrozytenmembranen konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Damit kann eine zu geringe Supplementation von Aminosäuremischungen mit mehrfach

ungesättigten Fettsäuren vermutet werden, was möglicher Weise durch zu geringen Konsum dieser Produkte, durch zu geringe Dosierung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Aminosäuremischungen oder durch eine zu geringe Wirkung der zugesetzten Fettsäuren im Organismus erklärt werden kann.

Die Notwendigkeit zu einer Veränderung der speziellen Diät für PKU-Patienten, wie es als Ergebnis besonders italienischer Studien gefordert wird (Agostoni et al., 1995, Giovannini et al., 1996), lässt sich aus den vorliegenden Ergebnissen derzeit in Deutschland nicht ableiten.

6 Literaturverzeichnis

Acosta BP, Yannicelli S, Singh R, Eisas LJ II, Kennedy MJ, Bernstein L, Rohr F, Trahms C, Koch R, Breck J: Intake and blood levels of fatty acids in treated patients with phenylketonuria. *J Pediatr: Gastroenterol Nutr* 33(3): 253-259, 2001

Agostoni C, Riva E, Biasucci G, Luotti D, Bruzzese MG, Marangoni F, Giovannini M: The Effects of n-3 and n-6 Polyunsaturated Fatty Acids on Plasma Lipid and Fatty Acids of Treated Phenylketonuric Children. *Prostaglandins Leukotrienes and essential Fatty acids* 53: 401-404, 1995

Agostoni C, Scaglioni S, Bonvissuto M, Bruzzese MG, Giovannini M, Riva E: Biochemical effects of supplemented long-chain polyunsaturated fatty acids in hyperphenylalaninemia. *Prostaglandins Leukotrienes and essential Fatty acids* 64(2): 111-115, 2001

Appel LJ, Miller ER 3rd, Seidler AJ, Whelton PK: Does supplementation of diet with fish oil reduce blood pressure? A meta-analysis of controlled clinical trials. *Arch Intern Med* 153(12): 1429- 1438, 1993

Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J: Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *Cell Mol Life Sci* 55(8-9): 1078-1087, 1999

Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Giovannucci EL, Willett WC: Dietary intake of marine n-3 fatty acids, fish intake, and the risk of coronary disease among men. *N Engl J Med* 332: 977-982, 1995

Bang HO, Dyerberg J, Nielsen AB: Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic West-coast Eskimos. *Lancet* 1: 1143-1145, 1971

Bang HO, Dyerberg J, Sinclair HM: The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am J Clin Nutr* 33(12): 2657-2661, 1980

Baumann KH, Hessel F, Larass I, Mueller T, Angerer P, Kiefl R, von Schacky C.: Dietary omega-3, omega-6 and omega-9 unsaturated fatty acids and growth factor and cytokine gene expression in unstimulated and stimulated monocytes. A randomized volunteer study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 59-66, 1999

Bauman ML, Kemper TL: Morphologic and histoanatomic observations of the brain in untreated human phenylketonuria. *Acta Neuropathol*, 58(1): 55-63, 1982

Bickel H, Gerrad J, Hickmans EM: Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. *Lancet* 17(2): 812-813, 1953

Bandini LG, Schoeller DA, Dietz WH: Energy expenditure in obese and nonobese adolescents. *Pediatr Res* 27(2): 198-203, 1990

Bjerve KS, Mostad IL, Thoresen L.: Alpha-linolenic acid deficiency in patients on longterm gastric-tube feeding: estimation of linoleic acid and long-chain unsaturated n-3 fatty acid requirement in man. *Am J Clin Nutr* 45(1): 66–77, 1987

Bremer HJ, Bürdel P, Burgard P, Clemens PC, Leupold D, Mönch E, Przyrembel H, Trefz FK, Ullrich K: Empfehlungen der Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen (APS). *Monatsschr Kinderheilkunde* 145: 961-962, 1997

Brenner RR: Regulatory function of delta6 desaturase – key enzyme of polyunsaturated fatty acid synthesis. *Adv Exp Med Biol* 83: 85-105, 1977

Burgard P, Bremer HJ, Bürdel P, Clemens PC, Mönch E, Przyrembel H, Trefz FK, Ullrich K: Rationale for the German recommendations for phenylalanine level control in phenylketonuria 1997. *Eur J Pediatr* 158: 46-54, 1999

Burr GO, Burr MM: A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem* 82: 345 – 367, 1929

Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, Rogers S, Holliday RM, Sweetnam PM, Elwood PC, Deadman NM: Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 2(8666): 757-761, 1989

Butte W, Kirsch M, Denker J: The determination of pentachlorophenol and tetrachlorophenol in wadden sediment and clams (*Mya arenaria*) using triethylsulfonium hydroxide for extraction and pyrolytic ethylation. *Int J Environ Anal Chem* 13(2): 141-153, 1983

Channon S, Goodman G, Zlotowitz S, Mockler C, Lee PJ: Effects of dietary management of phenylketonuria on long-term cognitive outcome. *Arch Dis Child* 92: 213-218, 2007

Chaet MS, Garcia VF, Arya G, Ziegler MM: Dietary fish oil enhances macrophage production of nitric oxide. *J Surg Res.* 57(1): 65-68, 1994

Cleary MA, Feillet F, White FJ, Vidailhet M, MacDonald A, Grimsley A, Maurin N, Baulny de Ogier H, Rutherford PJ: Randomised controlled trial of essential fatty acid supplementation in phenylketonuria. *Eur J Clin Nutr* 60: 915-920, 2006

Connor WE, Neuringer M, Reisbick S: Essentiality of omega-3 fatty acids: evidence from primate model and implications for human nutrition. *World Rev. Nutr Diet* 66: 118-132, 1991

Daniel PM, Moorhouse SR, Pratt OE: Amino acid precursors of monoamine neurotransmitters and some factors influencing their supply to the brain. *Psychol Med* 6(2): 277-286, 1976

Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung: Referenzwerte für Nährstoffzufuhr 1. Aufl. Umschau Braus Verlagsgesellschaft, Frankfurt/ Main, 2000

Drevon CA: Marine oils and their effects. *Nutr Rev* 50(4(2Pt)): 38-45, 1992

Eder K, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M: Gas chromatography analysis of fatty methyl esters: Avoiding discrimination by programmed temperature vaporizing injection. *J Chromatogr* 588: 265-272, 1991

Eder K, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M: Studies on the extraction of phospholipids from erythrocyte membranes in the rat. *Clin Chim Acta* 219(1-2): 93-104, 1993

Endres S, Eisenhut T, Sinha B: n-3 polyunsaturated fatty acids in the regulation of human cytokine synthesis. *Biochem Soc Trans* 23(2): 277-281, 1995

Failor RA, Childs MT, Bierman EL: The effects of omega 3 and omega 6 fatty acid-enriched diets on plasma lipoproteins and apoproteins in familial combined hyperlipidemia. *Metabolism* 37(11): 1021-1028, 1988

Fernandes G, Venkatraman JT: Role of omega-3 fatty acids in health and disease. *Nutr Res* 13(1): 19-45, 1993

Galli C, Agostoni C, Mosconi C, Riva E, Salari PC, Giovannini M: Reduced plasma C-20 and C-22 polyunsaturated fatty acids in children with phenylketonuria during dietary intervention. *J Pediatr* 119: 562-567, 1991

Gebelein H, Heite HJ: Über die Unsymmetrie biologischer Häufigkeitsverteilungen. *Klinische Wochenschrift* 28: 41-45, 1950

GISSI-Prevenzione Investigators: Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione Trial. *Lancet* 354 (Issue 9177): 447-455, 1999

Gerhard GT, Duell PB: Homocysteine and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 10(5): 417-428, 1999

Gill I, Valivety R: Polyunsaturated fatty acids, Part 1: Occurrence, biological activities and applications. *Trends Biotechnol* 15(10): 401-409, 1997

Giovannini M, Agostoni C, Biasucci G, Rottoli A, Luotti D, Trojan S, Riva E: Fatty acid metabolism in phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 155(Suppl 1): 132-135, 1996

Hahn A, Ströhle A, Schmitt B, Watkinson BM: Wirkstoffe funktioneller Lebensmittel in der Prävention der Arteriosklerose. *Ernährungs-Umschau* 49(5): 172-176, 2002

Hara A, Radin NS: Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal Biochem* 90(1): 420-426, 1978

Harris WS: Nonpharmacologic treatment of hypertriglyceridemia: focus on fish oils. *Clin Cardiol* 22 (6 Suppl): 1140-1143, 1999

Henzen C: Fischöl – heilsame Quintessenz der Eskimodiät? *Schweiz Rundsch Med Praxis* 84: 11-15, 1995

Holman RT, Johnson SB, Ogburn PL: Deficiency of essential fatty acids and membrane fluidity during pregnancy and lactation. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(11): 4835-4839, 1991

Huttenlocher PR: The neuropathology of phenylketonuria: human and animal studies. *Eur J Pediatr* 159(Suppl2): 102-106, 2000

Hwang DH, Chanmugam PS, Ryan DH, Boudreau MD, Windhauser MM, Tulley RT, Brooks ER, Bray GA: Does vegetable oil attenuate the beneficial effects of fish oil in reducing risk factors for cardiovascular disease? *Am J Clin Nutr.* 66(1): 89-96, 1997

Infante JP: A function for the vitamin E metabolite alpha-tocopherol quinone as an essential enzyme cofactor for the mitochondrial fatty acid desaturases. *FEBS Lett* 446(1): 1-5, 1999

Infante JP, Huszagh VA: Impaired arachidonic (20:4n-6) and docosahexaenoic (22:n-3) acid synthesis by phenylalanine metabolites as etiological factors in the neuropathology of phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 72(3): 185-198, 2001

Jump DB: The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem* 277(11): 8755-8758, 2002

Kellner R: Chromatographische Trennmethode In: Lottspeich F, Zobras H (Hrsg.) *Bioanalytik*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg/ Berlin, 195-215, 1998

Kilaru S, Frangos SG, Chen AH, Gortler D, Dhadwal AK, Araim O, Sumpio BE: Nicotine: a review of its role in atherosclerosis. *J Am Coll Surg* 193(5): 538-546, 2001

Kristensen SD, Schmidt EB, Dyerberg J: Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and human platelet function: a review with particular emphasis on implications for cardiovascular disease. *J Intern Med Suppl* 731: 141-150, 1989

Lehr HA, Hübner C, Finckh B, Nolte D, Beisiegel U, Kohlschütter A, Messmer K: Dietary fish oil reduces leukocyte/endothelium interaction following systemic administration of oxidatively modified low density lipoprotein. *Circulation* 84(4): 1725-1731, 1991

Lorgeril de M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamele N: Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 99: 779-785, 1999

McKean CM: The effects of high phenylalanine concentrations on serotonin and catecholamine metabolism in the human brain. *Brain Res* 47: 469-76, 1972

McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR, Andrews JW, Hayes JR: Dietary fish oil augments nitric oxide production or release in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 36(1): 33-38, 1993

Medical Research Council Working Party on Phenylketonuria: Phenylketonuria due to phenylalanine hydroxylase deficiency: a unfolding story. *Brit Med J* 306(6870): 115-119, 1993

Melchert HU, Limsathayourat N, Milhajlović H, Eichberg J Thefeld W, Rottka H: Fatty acid patterns in triglycerides, diglycerides, free fatty acids, cholesteryl esters and phosphatidylcholine in serum from vegetarians and nonvegetarians. *Arteriosclerosis* 65(1-2):159-166, 1987

Metz G: Omega-3-Fettsäuren: eine Standortbestimmung zum Millennium. Stockdorf: Forum-Medizin-Verlagsgesellschaft, 2000

Meydani M: Nutrition, immune cells, and atherosclerosis. *Nutr Rev* 56(1 Pt2): 177-182, 1998

Moilanen T, Räsänen L, Viikari J, Åkerblom HK, Ahola M, Uhari M, Pasanen M, Nikkari T: Fatty acid composition of serum cholesteryl esters in 3- to 18-year-old Finnish children and its relation to diet. *Am J Clin Nutr* 42(4): 708-713, 1985

Mönch E, Link R: Diagnostik und Therapie bei angeborenen Stoffwechselstörungen. SPS Verlagsgesellschaft mbH, Heilbronn, 2002

Mori TA, Beilin LJ: Long-chain omega 3 fatty acids, blood lipids and cardiovascular risk reduction. *Curr Opin Lipidol* 12(1): 11-17, 2001

Morris MC, Manson JE, Rosner B, Buring JE, Willett WC, Hennekens CH: Fish consumption and cardiovascular disease in the physicians' health study: a prospective study. *Am J Epidemiol* 142(2):166-175, 1995

Morrison WR, Smith LM: Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res* 5: 600-608, 1964

Moseley K, Koch R, Moser AB: Lipid status and long-chain polyunsaturated fatty acid concentrations in adult and adolescents with phenylketonuria on phenylalanine-restricted diet. *J Inher Metab Dis* 25: 56-64, 2002

Müller M, Novak A: Chromatographic procedures for plasma lipids analysis. *Med Lab (Stuttgart)* 31(2): 40-54, 1978

Nee J: Dissertation, unveröffentlichtes Manuskript, persönliche Mitteilung, Berlin, 2008

Nestel PJ: Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function. *Am J Clin Nutr* 71(suppl): 228-231, 2000

Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE: The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu Rev Nutr*, 8:517-541, 1988

Nutri Science GmbH: Freiburger Ernährungsprotokoll. Spitta Verlag GmbH & Co. KG, 2004

Pöge AP, Bäumann K, Müller E, Leichsenring M, Schmidt H, Bremer HJ.: Long-chain polyunsaturated acids in plasma and erythrocyte membrane lipids of children with phenylketonuria after controlled linoleic acid intake. *J Inher Metab Dis*, 21(4): 373-381, 1998

Riumallo JA, Schoeller D, Barrera G, Gattas V, Uauy R: Energy expenditure in underweight free-living adults: Impact of energy supplementation as determined by doubly labeled water and indirect calorimetry. *Am J Clin Nutr* 49(2): 239-246, 1989

Rose HJ, White F, MacDonald A, Rutherford PJ, Favre E: Fat intakes of children with PKU on low phenylalanine diets. *J Hum Nutr Dietet* 18: 395-400, 2005

Sanjurjo P, Perteagudo L, Rodriguez Soriano J, Vilaseca A, Campistol J: Polyunsaturated fatty acid status in patients with phenylketonuria. *J Inher Metab Dis* 17: 704-709, 1994

Schmidt EB: n-3 fatty acids and the risk of coronary heart disease. *Dan Med Bull* 44(1): 1-22, 1997

Schmidt HHHW, Walter U, Kochsiek K: Bildung und Wirkung von Stickstoffmonoxid (NO) im vaskulären System. *Internist* 38(5): 406-410, 1997

Schulz B and Bremer HJ: Nutrient intake and food consumption of adolescents and young adults with phenylketonuria. *Acta Paediatr* 84(7): 743-748, 1995

Schweitzer-Krantz S, Burgard P: Survey of national guidelines for the treatment of phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 159 (Suppl 2): 70-73, 2000

Scriver CR, Kaufman S, Eisensmith RC, Woo SLC. The hyperphenylalaninemias. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill: 1015-1075, 2001

Shahar E, Folsom AR, Wu KK, Dennis BH, Shimakawa T, Conlan MG, Davis CE, Williams OD: Associations of fish intake and dietary n-3 polyunsaturated fatty acids with a hypocoagulable profile. The Arteriosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb* 13(8): 1205-1212, 1993

Shantaram V: Pathogenesis of atherosclerosis in diabetes and hypertension. *Clin Exp Hypertens* 21(1-2): 69-77, 1999

Shimokawa H: Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol* 31(1): 23-37, 1999

Simopoulos AP: Omega-3 fatty acids in the prevention-management of cardiovascular disease. *Can J Physiol Pharmacol* 75(3): 234-239, 1997

Singer P: *Was sind, wie wirken Omega-3-Fettsäuren?* Frankfurt am Main, Umschau-Zeitschriftenverlag Breidenstein GmbH, 1994

Sprecher H: Interactions between the metabolism of n-3 and n-6 fatty acids. *J Intern Med Suppl* 731: 5-9, 1989

Terano T, Hirai A, Hamazaki T, Kobayashi S, Fujita T, Tamura Y, Kumagai A: Effect of oral administration of highly purified eicosapentaenoic acid on platelet function, blood viscosity and red cell deformability in healthy human subjects. *Arteriosclerosis* 46(3): 321-331, 1983

The Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group (1990): Mortality rates after 10,5 years for participants in the multiple risk factor intervention trial: findings related to a priori hypotheses of the trial. *J Am Med Ass* 263(13),1795-1801. [Erratum. *JAMA* 263(23), 3151, 1990]

Teffelen-Heithoff A: Diätbehandlung bei Phenylketonurie (PKU). *Akt Ernähr-Med* 24: 123-128, 1999

Vosmann K, Schulte E, Klein E, Weber N: Reaction of lipids containing hydroxy groups with trimethylsulfonium hydroxide: formation of O-methyl derivates. *Lipids* 31(3): 349-352, 1996

Wever RM, Lüscher TF, Cosentino F, Rabelink TJ: Atherosclerosis and the two faces of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 97(1):108-112, 1998

Woolf N: The pathology of atherosclerosis with particular reference to the effects of hyperlipidaemia. *Eur Heart J* 8 (Suppl E): 3-14, 1987

Yehuda S, Carasso RL: Modulation of learning, pain thresholds, and thermoregulation in the rat by preparations of free purified α -linolenic and linoleic acids: Determination of the optimal omega-3- to omega-6 ratio. *Proc Natl Acad Sci USA* 90(21): 10345 – 10349, 1993

7 Abbildungsverzeichnis

| | | |
|---------------------|---|----|
| Abbildung 1: | Stoffwechseleränderungen bei unbehandelter PKU | 8 |
| Abbildung 2: | Strukturformel der α -Linolensäure n-3 | 10 |
| Abbildung 3: | Metabolisierung von Linolsäure (LA) und α -Linolensäure (LNA) zu Derivaten der n-6/ n-3-Reihe | 12 |
| Abbildung 4: | vereinfachtes Schema zur Bildung von Eicosanoiden aus AA und EPA in verschiedenen Zelltypen und biologische Effekte der Intermediärprodukte | 13 |
| Abbildung 5: | Schema eines Gaschromatographen | 28 |

8 Tabellenverzeichnis

| | | |
|--------------------|--|----|
| Tabelle 1: | protektive Wirkungen von Omega-3-Fettsäuren bei kardiovaskulären Erkrankungen | 17 |
| Tabelle 2: | analysierte Laborparameter der PKU-Patienten | 24 |
| Tabelle 3: | analysierte Laborparameter der gesunden Probanden | 24 |
| Tabelle 4: | wichtige Omega-Fettsäuren im Überblick | 25 |
| Tabelle 5: | ausgewertete Daten der Ernährungsprotokolle | 29 |
| Tabelle 6: | Laborparameter in der PKU-Gruppe und Kontrollgruppe | 32 |
| Tabelle 7: | Vergleich der relevanten Laborparameter zwischen PKU-Gruppe und Kontrollgruppe | 33 |
| Tabelle 8: | Laborparameter in der Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe | 34 |
| Tabelle 9: | Vergleich der relevanten Laborparameter innerhalb der PKU-Gruppe | 35 |
| Tabelle 10: | Angabe der Serumlipide von PKU-Patienten und Kontrollgruppe | 36 |
| Tabelle 11: | Angabe der Serumlipide innerhalb der PKU-Gruppe, unterteilt in Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe | 38 |
| Tabelle 12: | Angabe der Gesamtlipide der Erythrozytenmembran bei PKU-Patienten und Kontrollgruppe | 40 |
| Tabelle 13: | Angabe der Gesamtlipide der Erythrozytenmembran in der PKU-Gruppe, unterteilt in Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe | 42 |
| Tabelle 14: | Auswertung der Ernährungsprotokolle für PKU-Patienten mit Aminosäuremischungen und der Kontrollgruppe | 43 |
| Tabelle 15: | Auswertung der Ernährungsprotokolle für PKU-Substitutionsgruppe und Nicht-Substitutionsgruppe | 45 |

Tabelle 16: Vergleich der Ergebnisse bisheriger Arbeiten mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit: ausgewählte Fettsäuren im Serum und in der Erythrozytenmembran

49

9 Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|--|
| AA | Arachidonsäure |
| ADP | Adenosindiphosphat |
| α -TQ | α –Tocopherolchinon |
| APS | Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| BH ₄ | Tetrahydrobiopterin |
| BHT | Butylhydroxytoluen |
| BMI | Body Mass Index |
| Ca | Calcium |
| COX | Cyclooxygenase |
| cGMP | cyclo-Guanosinmonophosphat |
| DDR | Deutsche Demokratische Republik |
| DGLA | Di-homo-gamma-Linolensäure |
| DGE | Deutsche Gesellschaft für Ernährung |
| DHA | Docosahexaensäure |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |
| EPA | Eicosapentaensäure |
| EUFS | einfach ungesättigte Fettsäuren |
| FID | Flammenionisationsdetektor |
| FS | Fettsäuren |
| GC | Gaschromatographie |
| GSC | Gas Solid Chromatography |
| GLC | Gas Liquid Chromatography |
| Hb | Hämoglobin |
| HDL | High-Density- Lipoprotein |
| IUPAC | International Union of Pure and applied Chemistry |
| KHK | Koronare Herzkrankheit |
| LA | Linolsäure |
| LCPUFA | long chain polyunsaturated fatty acids |
| LDL | Low-Density-Lipoprotein |
| LNA | α -Linolensäure |
| LTB ₄ | Leukotrien B ₄ |

| | |
|------------------|------------------------------------|
| LTB ₅ | Leukotrien B ₅ |
| LOX | Lipoxygenase |
| MCP-1 | monocyte chemoattractant protein-1 |
| Mg | Magnesium |
| MUFS | Mehrfach ungesättigte Fettsäuren |
| Na | Natrium |
| n.a. | nicht angegeben |
| n.b. | nicht bestimmt |
| n.n. | nicht nachweisbar |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| n.s. | nicht signifikant |
| PAH | Phenylalaninhydroxylase |
| PCI | Prostacyclin |
| PDGF-A | platelet-derived growth factor-A |
| PDGF-B | platelet-derived growth factor-B |
| PGI ₂ | Prostacyclin I ₂ |
| PGI ₃ | Prostacyclin I ₃ |
| PHE | Phenylalanin |
| PKU | Phenylketonurie |
| SEM | Standardfehler des Mittelwertes |
| TMSH | Trimethylsulfoniumhydroxid |
| TNF-α | Tumornekrosefaktor-α |
| T ₃ | Trijodthyronin |
| T ₄ | Thyroxin |
| TXA ₂ | Thromboxan A ₂ |
| TXA ₃ | Thromboxan A ₃ |
| VLDL | Very low density lipoprotein |

10 Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Wiedenmann danke ich für die Bereitstellung des Themas und die Möglichkeit zur Promotion in seiner Klinik. Für die fachliche Anleitung und Unterstützung möchte ich mich sehr herzlich bei Herrn Professor Dr. Mönch bedanken. Die engagierte Leitung der Sprechstunde für angeborene Stoffwechselerkrankungen hat in dieser Zeit Frau Dr. Sari übernommen, der ich zu großem Dank verpflichtet bin. Trotz hoher Arbeitsbelastung in der Klinik hat sie immer ein offenes Ohr für jeden PKU-Patienten gehabt und sich ganz selbstverständlich mit um die Studienbelange gekümmert.

Es geht natürlich auch ein großer Dank an das Team der Stoffwechselambulanz unter der Leitung von Fr. Dr. Plökinge.

Gern denke ich an die interessanten Gespräche und die freundliche Unterstützung durch die Ernährungsberaterin Frau Karin Loschen zurück. Sie ist die gesamte Zeit immer eine sehr große Hilfe für mich gewesen.

Besonderer Dank geht an das Labor am Campus Virchow Klinikum. Frau Lange hat mir die Arbeit in ihrem Labor dort ermöglicht und mir immer mit Rat und Tat gemeinsam mit Frau Dr. Klein zur Seite gestanden.

An das ernährungswissenschaftliche Institut der Universität Halle-Wittenberg geht ein großer Dank an Herrn Professor Eder und sein Team für die problemlose Durchführung der GC-Analyse. In diesem Zusammenhang danke ich Fr. Dr. Sülzele sehr für die intensive fachliche Betreuung und Unterstützung.

Zudem wäre die Arbeit nicht ohne den Rückhalt meiner Familie und meines Partners Oliver Kurzke möglich gewesen.

11 Lebenslauf

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

Erklärung

„Ich, Nadine Mönch, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: "Bestimmung der Fettsäurenprofile (insbesondere der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren) im Serum und in den Erythrozytenmembranen bei erwachsenen Patienten mit Phenylketonurie im Vergleich zu Stoffwechselgesunden; Untersuchung zum Risiko frühzeitiger Blutgefäßveränderungen" selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 2.6.2008

Nadine Mönch