

Institut für Ernährungswissenschaft  
Justus-Liebig-Universität Gießen

## **Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie Teil II:**

### **Einfluß der Kostform auf den Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus in der Schwangerschaft**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. oec. troph)  
im Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und  
Umweltmanagement  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Corinna Koebnick**

Gießen 2000

Dissertation im Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie  
und Umweltmanagement  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

25.09.2000

Vorsitzender: Prof. Dr. E. Weigand  
1. Gutachter: Prof. Dr. Claus Leitzmann  
2. Gutachter: Prof. Dr. H. Laube  
Prüfer: Prof. Dr. M. Krahwinkel  
Prüferin: Prof. Dr. M. Neuhäuser-Bertold

Für den besten Ehemann von allen



# Inhaltsverzeichnis

Kap.		Seite
<b>1</b>	<b>Einleitung und Fragestellung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Vitamin B<sub>12</sub></b> .....	<b>5</b>
2.1	Geschichte.....	6
2.2	Stoffwechsel.....	7
2.2.1	Absorption.....	7
2.2.2	Transport.....	9
2.2.3	Speicher und Körperverteilung.....	10
2.2.3	Exkretion und enterohepatischer Kreislauf.....	11
2.3	Funktionen.....	11
2.4	Vorkommen.....	12
2.5	Bedarf und Empfehlungen in Schwangerschaft und Stillzeit.....	13
2.6	Bioverfügbarkeit und die Bedeutung von Cobalamin-Analoga.....	15
2.7	Vitamin-B <sub>12</sub> -Mangel.....	17
<b>3</b>	<b>Folsäure</b> .....	<b>19</b>
3.1	Geschichte.....	20
3.2	Stoffwechsel.....	21
3.2.1	Absorption.....	21
3.2.2	Transport.....	22
3.2.3	Speicher und Körperverteilung.....	22
3.2.4	Exkretion und enterohepatischer Kreislauf.....	23
3.3	Funktionen.....	23
3.4	Vorkommen.....	24
3.5	Bedarf und Empfehlungen in Schwangerschaft und Stillzeit.....	25
3.6	Bioverfügbarkeit und ihre Einflußgrößen.....	27
3.7	Folsäuremangel.....	29
<b>4</b>	<b>Schwangerschaft und Vegetarismus</b> .....	<b>32</b>
4.1	Vitamin-B <sub>12</sub> -Stoffwechsel in der Schwangerschaft.....	32
4.2	Folsäure-Stoffwechsel in der Schwangerschaft.....	36
4.3	Ätiologie von Neuralrohrdefekten.....	37
4.4	Vegetarismus in der Schwangerschaft.....	39
<b>5</b>	<b>Biochemische Meßgrößen des Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folsäurestatus</b> ..	<b>40</b>
5.1	Vitamin-B <sub>12</sub> -Fraktionen im Serum.....	41
5.1.1	Gesamt-Vitamin-B <sub>12</sub> und einzelne Vitamin-B <sub>12</sub> -Proteinfraktionen.....	41
5.1.2	Vitamin-B <sub>12</sub> -Sättigungskapazitäten und freie Vitamin B <sub>12</sub> -Bindungsproteine.....	42
5.2	Vitamin B <sub>12</sub> im Erythrozyten.....	43
5.3	Folsäure im Plasma/Serum.....	44
5.4	Folsäure im Erythrozyten.....	45
5.5	Homocystein.....	46

5.6	Methylmalonsäure.....	48
5.7	Formiminoglutaminsäure.....	48
5.8	Segmentierung der neutrophilen Granulozyten .....	49
5.8.1	Segmentationsrate.....	49
5.8.2	Segmentationsindex .....	50
5.9	Schilling-Test .....	50
5.10	dU-Suppression-Test .....	50
5.11	Blutbild .....	51
<b>6</b>	<b>Studienbeschreibung und Durchführung.....</b>	<b>52</b>
6.1	Studiendesign .....	52
6.2	Rekrutierung und Auswahl der Studienteilnehmerinnen.....	52
6.3	Erhebung der Nährstoffzufuhr.....	55
6.4	Erhebung der Nährstoffversorgung - Laboranalysen.....	56
6.5	Schwangerschaftstagebuch und Mutterpaß .....	59
6.6	Statistische Methoden.....	59
<b>7</b>	<b>Allgemeine Beschreibung der Studienteilnehmerinnen.....</b>	<b>62</b>
<b>8</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>65</b>
8.1	Lebensmittelverzehr.....	65
8.2	Vitamin-B <sub>12</sub> - und Folsäurezufuhr .....	65
8.3	Hämatologische Parameter des Vitamin-B <sub>12</sub> - und Folatstatus.....	71
8.3.1	Vitamin-B <sub>12</sub> -Status .....	71
8.3.1.1	Vitamin B <sub>12</sub> im Serum.....	71
8.3.1.2	Vitamin B <sub>12</sub> im Erythrozyten .....	74
8.3.1.3	Transcobalamine .....	75
8.3.1.4	Transcobalaminsättigung.....	76
8.3.1.5	Häufigkeit von Vitamin-B <sub>12</sub> -Mangel.....	78
8.3.1.6	Zusammenhänge zwischen den Vitamin-B <sub>12</sub> -Parametern .....	81
8.3.2	Folatstatus .....	82
8.3.2.1	Folat im Plasma .....	82
8.3.2.2	Folat im Erythrozyten .....	82
8.3.2.3	Häufigkeit von Folatmangel.....	83
8.3.3	Homocystein und Segmentation neutrophiler Granulozyten.....	84
8.3.4	Hämoglobin und Erythrozytenindizes .....	87
8.4	Zusammenhänge zwischen Vitamin-B <sub>12</sub> - und Folatstatus .....	88
8.5	Zusammenhänge von Vitamin-B <sub>12</sub> - und Folatstatus mit den Homocysteinkonzentrationen und der Segmentation neutrophiler Granulozyten.....	90
8.6	Zusammenhänge von Vitamin-B <sub>12</sub> - und Folatstatus mit den Hämoglobinkonzentrationen und den Erythrozytenindizes.....	93
8.7	Zusammenhänge von Vitamin-B <sub>12</sub> - und Folatstatus mit der Ernährung.....	94
8.7.1	Vitamin-B <sub>12</sub> -Status .....	94
8.7.1.1	Zusammenhänge zwischen Vitamin-B <sub>12</sub> -Status und Nährstoffzufuhr .....	94
8.7.1.2	Zusammenhänge zwischen Vitamin-B <sub>12</sub> -Status und Lebensmittelverzehr.....	96
8.7.2	Folatstatus .....	97
8.7.2.1	Zusammenhänge zwischen Folatstatus und Nährstoffzufuhr .....	97
8.7.2.2	Zusammenhänge zwischen Folatstatus und Lebensmittelverzehr.....	99
8.7.3	Homocysteinkonzentrationen .....	100
8.7.3.1	Zusammenhänge zwischen Homocysteinkonzentrationen und Nährstoffzufuhr...	100

---

8.7.3.2	Zusammenhänge zwischen Homocysteinkonzentrationen und Lebensmittel verzehr .....	102
8.7.4	Sonstige Parameter .....	103
<b>9</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>104</b>
9.1	Bewertung des Lebensmittelverzehrs .....	105
9.2	Bewertung der Nährstoffzufuhr anhand von Zufuhrempfehlungen .....	106
9.2.1	Vitamin-B <sub>12</sub> -Zufuhr .....	106
9.2.2	Folatzufuhr .....	108
9.3	Eignung der gemessenen Blutparameter für die Bewertung des Nährstoff status in der Schwangerschaft .....	110
9.4	Bewertung des Vitamin-B <sub>12</sub> -Status .....	114
9.5	Bewertung des Folatstatus .....	116
9.6	Bewertung der Homocysteinkonzentrationen .....	119
9.7	Auswirkungen der Kostform auf die Granulozytensegmentation und weitere hämatologische Parameter .....	120
9.8	Bewertung der bestehenden Zufuhrempfehlungen für schwangere Frauen .....	121
9.8.1	Vitamin B <sub>12</sub> .....	121
9.8.2	Folat .....	122
9.8.3	Die Einführung der „Dietary folate equivalents“ - für Deutschland ein Gewinn? ...	123
9.9	Schlußfolgerungen und Empfehlungen .....	124
<b>10</b>	<b>Zusammenfassung/Summary</b> .....	<b>126</b>
<b>11</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>132</b>
<b>12</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>145</b>
12.1	Fragebogen mit Häufigkeitstabelle .....	146
12.2	Ernährungsprotokoll .....	158
12.3	Schwangerschaftstagebuch .....	177

## Verzeichnis der Tabellen

Tab.		Seite
1.1	Definition der Vollwert-Ernährung.....	1
2.1	Transportproteine der Intrinsic-Faktor-vermittelten Vitamin-B <sub>12</sub> -Absorption.....	8
2.2	Cobalamin-Gehalt ausgewählter Lebensmittel.....	12
2.3	Zufuhrempfehlungen ausgewählter Personengruppen .....	14
3.1	Die wichtigsten Reaktionen der Folat-Coenzyme.....	24
3.2	Folsäure-Gehalte ausgewählter Lebensmittel in Folsäureäquivalenten.....	25
3.3	Zufuhrempfehlungen ausgewählter Personengruppen .....	26
3.4	Mögliche Faktoren, die die Bioverfügbarkeit von Folaten beeinflussen können.....	28
4.1	Studien über Verminderung des Risikos von Neuralrohrdefekten ohne vorherige Belastung (= occurrence) bei Folsäure-Supplementation .....	38
5.1	Biochemische Parameter des Folsäure und Vitamin-B <sub>12</sub> -Status.....	40
5.2	Grenzwerte für Vitamin-B <sub>12</sub> -Konzentrationen im Serum aus ausgewählten Studien bei schwangeren Frauen.....	42
5.3	Grenzwerte für einzelne Vitamin-B <sub>12</sub> -Fraktionen aus ausgewählten Studien.....	43
5.4	Vergleichswerte für Vitamin-B <sub>12</sub> -Sättigungskapazitäten und einzelne Vitamin B <sub>12</sub> -Fraktionen bei schwangeren Frauen.....	44
5.5	Grenzwerte für Plasma-Folat bei schwangeren Frauen .....	45
5.6	Grenzwerte für Folatkonzentrationen im Erythrozyten bei schwangeren Frauen.....	46
5.7	Vergleichswerte für Homocystein-Konzentrationen bei schwangeren Frauen .....	47
6.1	Auswahlkriterien für Vollwertköstlerinnen und Kontrollgruppe .....	54
6.2	Biochemische Parameter des Folsäure und Vitamin-B <sub>12</sub> -Status sowie weitere Parameter der vorliegenden Studie.....	56
6.3	Formeln zur Berechnung einiger Vitamin-B <sub>12</sub> - und Folsäure Parameter.....	58
6.4	Grenzwerte für die Beurteilung der Folatversorgung schwangerer Frauen.....	61
7.1	Demographische Daten der Studienteilnehmerinnen.....	62
7.2	Ferritin- und Zinkprotoporphyrinwerte aller Studienteilnehmerinnen.....	64
8.1	Mittlerer Lebensmittelverzehr der Studienteilnehmerinnen .....	66
8.2	Mittlere Cobalamin- und Folatzufuhr der Studiengruppen.....	67
8.3	Hämatologische Parameter der Studienteilnehmerinnen.....	72
8.4	Häufigkeit von Vitamin-B <sub>12</sub> -Mangelscheinungen bei Studienteilnehmerinnen .....	78
8.5	Auszüge aus der Korrelationsmatrix nach Pearson zwischen den einzelnen Vitamin-B <sub>12</sub> -Parametern .....	81
8.6	Häufigkeit von Homocysteinkonzentrationen und Segmentationszahlen außerhalb des Normalbereiches .....	87
8.7	Bestimmungsgrößen der Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten.....	90
8.8	Bestimmungsgrößen der Homocysteinkonzentrationen.....	91
8.9	Bestimmungsgrößen der Hämoglobinkonzentrationen .....	93
8.10	Unstandardisierte Regressionskoeffizienten für die kategorisierte Cobalaminzufuhr bei Serum-Vitamin-B <sub>12</sub> - und holo-Hap-Konzentrationen.....	95
8.11	Relatives Risiko (odds ratio) <sup>1</sup> eines Vitamin-B <sub>12</sub> - Mangels in Abhängigkeit von der Cobalaminzufuhr.....	96
8.12	Varianz der Serum-Vitamin-B <sub>12</sub> -Konzentrationen, die durch die Verzehrsmenge verschiedener Lebensmittel erklärt wird .....	97
8.13	Unstandardisierte Regressionskoeffizienten für die kategorisierte Folat- bzw. Cobalaminzufuhr bei den Folatkonzentrationen im Erythrozyten mit und ohne Berücksichtigung des Faktors vegetarische Ernährung .....	98
8.14	Varianz der Folatkonzentrationen im Erythrozyten, die durch die Verzehrsmenge verschiedener Lebensmittel erklärt wird .....	100
8.15	Unstandardisierte Regressionskoeffizienten für die kategorisierte Folat- bzw. Cobalaminzufuhr bei den Homocysteinkonzentrationen .....	101
8.16	Relatives Risiko (odds ratio) für erhöhte Homocysteinwerte in Abhängigkeit von der Folat- und Cobalaminzufuhr .....	102
9.1	Vergleich der Grenzwerte im ersten Trimenon mit Referenzwerten aus der Literatur .....	110



## Verzeichnis der Abbildungen

Abb.		Seite
1.1	Abweichungen von den Zufuhrempfehlungen der DGE in der Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie.....	2
2.1	Strukturformel von Vitamin B <sub>12</sub> .....	5
2.2	Wichtige Stationen der Vitamin-B <sub>12</sub> -Forschung.....	6
2.3	Häufigkeitsverteilung der individuellen Nährstoffbedarfswerte und Zufuhrempfehlungen .....	14
3.1	Strukturformel von Tetrahydropteroylpoly- $\gamma$ -glutamate .....	19
3.2	Wichtige Stationen der Folsäure-Forschung.....	20
3.4	Folataabhängige Reaktion von Formiminoglutamat.....	30
3.5	Folataabhängige Reaktion von 5-Aminoimidazol-4-carboxamid-ribonucleotid.....	30
3.6	Folat- und Vitamin-B <sub>12</sub> -abhängige Reaktion von Homocystein .....	31
6.1	Aufteilung der Studienteilnehmerinnen auf Kostgruppen und Trimester.....	53
7.1	Gewichtsentwicklung der Studienteilnehmerinnen .....	62
8.1	Kumulierte Häufigkeitsverteilung der Cobalaminzufuhr aus Lebensmitteln .....	68
8.2	Anteile ausgewählter Lebensmittelgruppen an der Cobalaminversorgung .....	69
8.3	Kumulierte Häufigkeitsverteilung der Folatzufuhr.....	70
8.4	Anteile ausgewählter Lebensmittelgruppen an der Folatversorgung .....	70
8.5	Vitamin-B <sub>12</sub> -Konzentrationen in Serum und Erythrozyten.....	75
8.6	Ungesättigte Transcobalamin-Konzentrationen und der Anteil gesättigter Transcobalamine im Serum .....	77
8.7	Kumulierte Konzentrationen an Serum-Vitamin-B <sub>12</sub> .....	80
8.8	Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten .....	82
8.9	Kumulierte Häufigkeitsverteilung der Folatkonzentrationen im Erythrozyten .....	84
8.10	Homocysteinkonzentrationen im Plasma und durchschnittliche Segmentation der neutrophilen Granulozyten.....	85
8.11	Kumulierte Häufigkeitsverteilung der Homocysteinkonzentrationen .....	86
8.12	Eisenstatus-adjustierte Hämoglobinkonzentrationen und Erythrozytenindizes .....	88
8.13	Folatkonzentrationen im Erythrozyten und Cobalaminzufuhr .....	89
8.14	Homocysteinkonzentrationen in Abhängigkeit von Folsäure- bzw. Vitamin-B <sub>12</sub> -Mangel .....	90
8.15	Homocysteinkonzentrationen und Vitamin-B <sub>12</sub> - bzw. Folatstatus .....	92
8.16	Zusammenhang zwischen Cobalaminzufuhr und Vitamin-B <sub>12</sub> -Konzentrationen sowie holo-Hap-Konzentrationen im Serum .....	95
8.17	Zusammenhang zwischen Cobalamin- und Folatzufuhr und Folatkonzentrationen im Erythrozyten .....	99
8.18	Zusammenhang zwischen Cobalamin- und Folatzufuhr und Homocysteinkonzentrationen .....	101
9.1	Stadien des Vitamin-B <sub>12</sub> -Mangels nach Herbert.....	113

## Verzeichnis der Abkürzungen

ADR	Average Dietary Requirement, EU
apo-TC II	freies Transcobalamin II ohne Vitamin B <sub>12</sub>
apo-Hap	freies Haptocorrin (Transcobalamin I + III) ohne Vitamin B <sub>12</sub>
AR	Adequate Requirement, USA
B	unstandardisierter Regressionskoeffizient
BGVV	Bundesamt für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Berlin
BLS	Bundeslebensmittelschlüssel
BMI	Body-Mass-Index
Cbl	Cobalamin
CG	Kontrollgruppe
CI	Konfidenzintervall
DFE	Dietary folate equivalents
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Frankfurt
EAR	Estimated Adequate Requirement, USA
EAST	erythrozytäre Aminotransaminase
EDTA	Ethylendiamintetraacetylacetat
FAO	Food and Agriculture Organisation, Rome
FFE	Free folate equivalents
FNB	Food and Nutrition Board, Washington
GLM	General Linear Model
GM	Geometrisches Mittel
Hb	Hämoglobin
HCY	Homocystein
Hk	Hämatokrit
holo-Hap	an Haptocorrin (Transcobalamin I + III) gebundenes Vitamin B <sub>12</sub>
holo-TC II	an Transcobalamin II gebundenes Vitamin B <sub>12</sub>
IF	Intrinsic Faktor
IOM	Institute of Medicine, Washington
LTI	Lowest Threshold Intake
MCH	Mean cellular hemoglobin
MCHC	Mean cellular hemoglobin concentration
MCV	Mean cellular volume
n	Anzahl
n.s.	nicht signifikant
NHMRC	National Health and Medical Research Council, London
NRC	National Research Council, Washington
NVEG	Nicht-Vegetarierinnen (Untergruppe der VWK)
OLV	Ovo-Lakto-Vegetarierinnen (Untergruppe der VWK)
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
p.m.	post menstruationem
PRI	Population Reference Intake, EU
r <sub>p</sub>	Korrelationskoeffizient nach Pearson
r <sub>s</sub>	Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman
R <sup>2</sup> adj.	adjustiertes Bestimmtheitsmaß
RDA	Recommended Dietary Allowances, USA
RDI	Recommended Dietary Intakes, USA
SCF	Scientific Committee for Food of the European Community, EU
SD	standard deviation
SEM	standard error of mean
SEE	standard error of the estimate
SSW	Schwangerschaftswoche
TBBC	total vitamin B <sub>12</sub> binding capacity
TC	Transcobalamin
THF	Tetrahydrofolat
UBBC	unsaturated vitamin B <sub>12</sub> binding capacity
VWK	Vollwertköstlerinnen
WHO	World Health Organisation, Geneva

In der vorliegenden Arbeit erfolgt die Angabe aller Konzentrationen in SI-Einheiten; die Angaben aus anderen Studien wurden dazu ebenfalls in SI-Einheiten umgerechnet.

# 1 Einleitung und Fragestellung

Die **Vollwert-Ernährung** nach der Gießener Konzeption ist eine Ernährungsform, in deren Empfehlungen sowohl die gesundheitlichen Aspekte als auch die Sozial- und Umweltverträglichkeit berücksichtigt werden (Tab. 1.1).

**Tab. 1.1.: Definition der Vollwert-Ernährung** (von Koerber et al. 1999)

Vollwert-Ernährung ist eine überwiegend lakto-vegetabile Ernährungsweise, bei der gering verarbeitete Lebensmittel bevorzugt werden. Gesundheitlich wertvolle Lebensmittel werden zu genußvollen Speisen zubereitet. Die hauptsächlich verwendeten Lebensmittel sind Vollkornprodukte, Gemüse und Obst, Kartoffeln, Hülsenfrüchte sowie Milch und Milchprodukte, daneben können auch geringe Mengen an Fleisch, Fisch und Eiern enthalten sein. Etwa die Hälfte der Nahrungsmenge besteht aus unerhitzter Frischkost. Die Zubereitung erfolgt schonend und mit wenig Fett aus frischen Lebensmitteln. Nahrungsmittel mit Zusatzstoffen werden vermieden.

Zusätzlich zur Gesundheitsverträglichkeit der Ernährung werden auch die Umweltverträglichkeit und die Sozialverträglichkeit des Ernährungssystems berücksichtigt. Das bedeutet unter anderem, möglichst ausschließlich Erzeugnisse aus anerkannt ökologischer Landwirtschaft zu verwenden sowie Erzeugnisse aus regionaler Herkunft und entsprechend der Jahreszeit zu bevorzugen. Weiterhin werden unverpackte oder umweltschonend verpackte Lebensmittel bevorzugt sowie umweltverträgliche Produkte und Technologien verwendet. Außerdem werden landwirtschaftliche Erzeugnisse bevorzugt, die unter sozialverträglichen Bedingungen erzeugt, verarbeitet und vermarktet werden (u.a. Fairer Handel mit Entwicklungsländern)

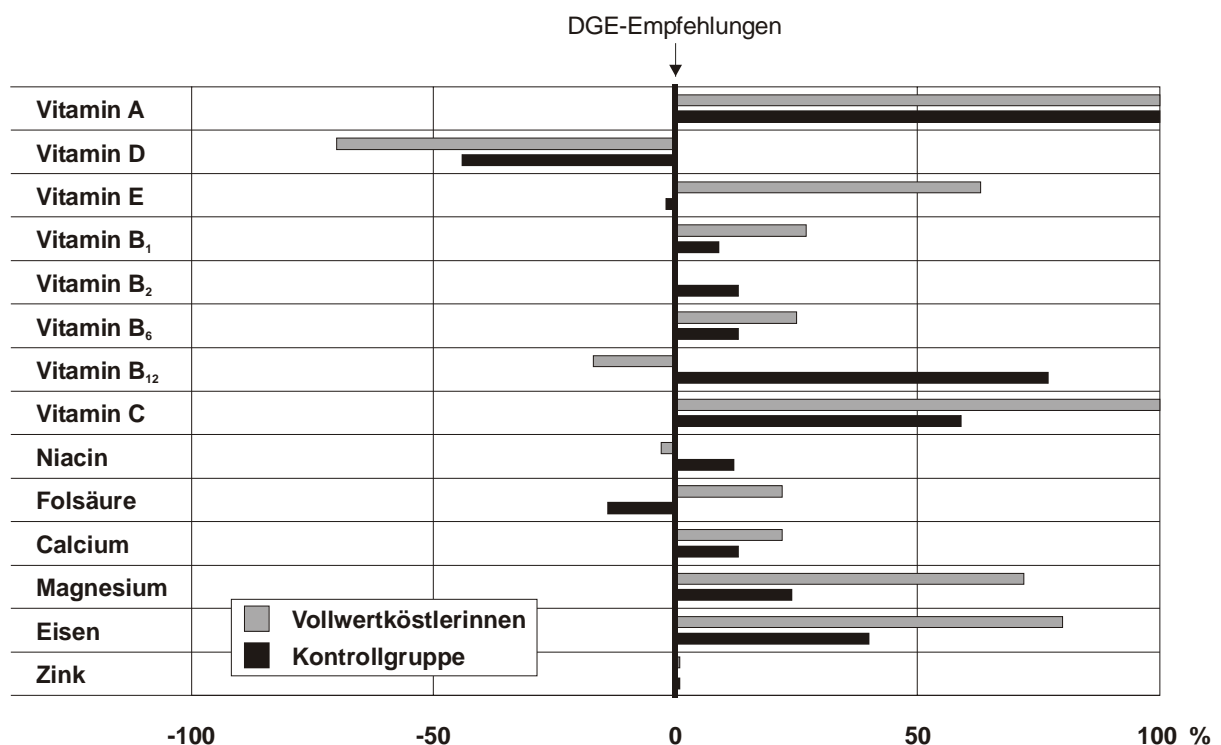
Mit Vollwert-Ernährung sollen hohe Lebensmittelqualität - besonders Gesundheit - Schonung der Umwelt und soziale Gerechtigkeit weltweit gefördert werden.

Obwohl die Vollwert-Ernährung in ihren Ursprüngen schon lange existiert, lagen bisher keine wissenschaftlichen Untersuchungen über die langfristigen Wirkungen einer Vollwert-Ernährung auf die Gesundheit vor. Im ersten Teil der **Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie**, die in den Jahren 1989 - 1994 durchgeführt wurde, sind erstmals der Ernährungsstatus einer großen Gruppe von Vollwertköstlerinnen untersucht worden. Mit Hilfe von Ernährungsprotokollen und Blutentnahmen wurde die Nährstoffaufnahme und -versorgung von 243 Vollwertköstlerinnen und 175 Frauen, die sich gemäß dem Bundesdurchschnitt ernährt haben (Kontrollgruppe), untersucht und verglichen (Aalderink et al. 1994, Groeneveld 1994, Hoffmann 1994).

Die Ergebnisse der Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie zeigen, daß die Vollwert-Ernährung eine Kostform darstellt, die den internationalen präventiv-medizinischen Ernährungsempfehlungen entspricht. Die günstige Lebensmittelzusammenstellung und die Bevorzugung von Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs bewirkt eine hohe Zufuhr von nahezu allen essentiellen Nährstoffen. Mit Ausnahme von Vitamin D und Vitamin B<sub>12</sub> erreichte die Vitamin- und Mineralstoffaufnahme der Vollwertköstlerinnen die Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE 1991) und überstieg diese teilweise sogar erheblich (Abb. 1.1). Es ist anzunehmen, daß Vollwertköstlerinnen ein niedrigeres Risiko für

ernährungsbedingte Krankheiten, wie Adipositas, Herz-Kreislauferkrankungen, Gicht und Krebs aufweisen.

Die Ergebnisse des ersten Teils der Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie zeigen aber auch, daß die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma bei den Vollwertköstlerinnen erheblich niedriger liegen als bei der Kontrollgruppe. Besonders bei den vegetarisch lebenden Vollwertköstlerinnen hatte eine größere Anzahl Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma unterhalb des Grenzwertes von 100 pmol/L als bei den nicht-vegetarisch lebenden Vollwertköstlerinnen und der Kontrollgruppe.



**Abb. 1.1: Abweichungen (%) von den Zufuhrempfehlungen der DGE (1993) in der Gießener Vollwert-Ernährungsstudie (berechnet nach Hoffmann et al. 1999)**

Allen Berechnungen liegt der Bundeslebensmittelschlüssel BLS II.2 zugrunde. Die Zufuhrberechnung von Vitamin A erfolgte in Retinoläquivalenten, von Vitamin E in Tocopheroläquivalenten, von Niacin in Niacinäquivalenten und von Folsäure in freien Folsäureäquivalenten.

An die Ernährung in der **Schwangerschaft** werden besonders hohe Ansprüche gestellt. Während der Nahrungsenergiebedarf in dieser Zeit nur um etwa 10 % ansteigt, bewegen sich die Empfehlungen für die Aufnahme bestimmter Vitamine und Mineralstoffe bei einer Steigerung bis zu 100 % gegenüber Nicht-Schwangeren. Dies hat zur Folge, daß die Nahrungsmenge nur geringfügig, die Nährstoffdichte jedoch stark erhöht werden muß.

Die **Folatversorgung** in der Schwangerschaft spielt eine bedeutende Rolle für die fetale Entwicklung und wird mit dem Auftreten von Neuralrohrdefekten, niedrigem Geburtsgewicht, verzögertem fetalen Wachstum, unzureichender Ausbildung des fetalen Nervensystems und dem Auftreten von Anämien in Verbindung gebracht (Scholl et al. 1996, Daly et al. 1995,

Neiger et al. 1993, MRC 1991). Der stark erhöhte Folatbedarf in der Schwangerschaft führt besonders bei niedrigen Körperspeichern schnell zu einem Folatmangel. Eine Folatsupplementation wird mittlerweile allgemein für alle Frauen im gebärfähigen Alter empfohlen, um eine ausreichende Folatsupplementation präkonzeptionell und in den ersten Wochen der Schwangerschaft sicherzustellen (BGVV 1998, Rasmussen et al. 1998, DGE 1997, Clark und Fisk 1994, NHMRC 1993, Centers for Disease Control 1992; Department of Health 1992). Die Umsetzung dieser Empfehlung ist aber sowohl in Deutschland als auch in anderen Ländern nur mangelhaft (Gärtner et al. 1997, Genzel-Boroviczeny et al. 1997, Irl und Hasford 1997, Rinke und Koletzko 1994) und läßt der präventiven Wirkung einer gesunderhaltenden Ernährungsweise eine besondere Bedeutung zukommen.

In vielen Ernährungsrichtlinien wird empfohlen, mehr Gemüse und Obst zu verzehren, um den Folatstatus breiter Bevölkerungsteile zu optimieren (NHMRC 1993, Centers for Disease Control 1992, Department of Health 1992). Trotzdem wird die Erhöhung der Folatzufuhr aus Lebensmitteln immer wieder kritisch beurteilt und eine effektive Wirkung auf den Folatstatus angezweifelt (Oakley 1998, Cuskelly et al. 1996). Es gibt bisher kaum Studien über die Bioverfügbarkeit von Folat bei verschiedenen Ernährungsformen (Gregory 1997).

Die **Vitamin-B<sub>12</sub>**-Versorgung gilt neben der Folatversorgung als unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung von Neuralrohrdefekten (Kirke et al. 1993). In den USA wurde bei Frauen, die eine vegane Ernährung über einen relativ kurzen Zeitraum praktiziert hatten, niedrige Konzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> in Serum und Muttermilch festgestellt, die stark miteinander korrelierten (Specker et al. 1990). Niedrige Konzentrationen in der Muttermilch traten auf, wenn die streng vegane Ernährung länger als 30 Monate praktiziert wurde. Dieser relativ kurze Zeitraum steht der Beobachtung entgegen, daß Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher über einen Zeitraum von etwa 5-10 Jahren reichen und lassen vermuten, daß möglicherweise auch die laufende Aufnahme an Vitamin B<sub>12</sub> einen Einfluß auf die Sekretion des Vitamins in die Muttermilch hat. Diese Beobachtung konnte auch in einer Studie mit Vitamin-B<sub>12</sub>-Supplementen bestätigt werden (Sneed et al. 1981).

Über die Veränderungen des Vitamin-B<sub>12</sub>-Stoffwechsels während der Schwangerschaft ist relativ wenig bekannt. Es gibt viele Lücken im Verständnis des Vitamin-B<sub>12</sub>-Stoffwechsels in der Schwangerschaft und es ist mehr Information notwendig über die Veränderungen der verschiedenen Transcobalamin-Konzentrationen während der Schwangerschaft und ihren Zusammenhang mit dem Vitamin-B<sub>12</sub>-Status. Außerdem werden mehr Kenntnisse über die Auswirkungen der langfristigen Cobalaminversorgung auf den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status und über den tatsächlichen Cobalaminbedarf während der Schwangerschaft benötigt.

Die Vollwert-Ernährung ist durch einen hohen Verzehr an Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft und einen hohen Verzehr von unerhitzter Frischkost sowie Vollkornprodukten gekennzeichnet. Gleichzeitig wird bei dieser Ernährungsweise gegenüber der herkömmlichen Ernährung der Verzehr von Fleisch und Eiern stark eingeschränkt (Hoffmann und Groeneveld 1995, von Koerber et al. 1999). Es stellt sich die Frage, ob die Vollwert-Ernährung auch für eine Gruppe mit einem erhöhten Bedarf, wie sie schwangere Frauen darstellen, eine ausreichende Versorgung gewährleisten kann. Zur Untersuchung dieser Fragestellung wurde der **zweite Teil der Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie** durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit wird die Versorgung schwangerer Vollwertköstlerinnen mit Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure im Vergleich mit einer Kontrollgruppe, die sich gemäß dem Bundesdurchschnitt ernährt, untersucht. Weitere Arbeiten befassen sich mit dem Magnesiumstatus (Leitzmann 1999) sowie dem Eisen-, Zink- und Kupferstatus (Heins 2000) schwangerer Vollwertköstlerinnen.

In der vorliegenden Arbeit werden folgende **Fragestellungen** untersucht:

- ⇒ Welche Parameter eignen sich zu Erfassung des Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus während der Schwangerschaft?
- ⇒ Hat die Kostform einen Einfluß auf den Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus schwangerer Frauen?
- ⇒ Unterscheiden sich die untersuchten Kostgruppen in der Häufigkeit von Anzeichen eines Vitamin-B<sub>12</sub>- bzw. Folatmangels?
- ⇒ Welche Nährstoffe und Lebensmittel sind die entscheidenden Einflußfaktoren auf Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus?
- ⇒ Müssen die allgemeinen Empfehlungen für die Vollwert-Ernährung für eine Vollwert-Ernährung in der Schwangerschaft modifiziert werden?

## 2 Vitamin B<sub>12</sub>

Unter den Begriff Vitamin B<sub>12</sub> werden porphyrinähnliche Verbindungen zusammengefaßt, die aus vier reduzierten Pyrrolringen mit einem zentralen Cobaltatom bestehen. Dieser Corrinring verfügt über einen  $\alpha$ -axialen und einen  $\beta$ -axialen Liganden am Cobaltatom. Eine Vitaminfunktion haben für den Menschen nur Cobalamine, bei denen der  $\alpha$ -axiale Ligand aus einer 5,6-Dimethylbenzimidazol-Kette besteht (Linnell und Bhatt 1995). Die unterschiedliche Substitution am  $\beta$ -axialen Liganden des Cobaltatoms führt zu den unterschiedlichen vitaminwirksamen Cobalaminen (Abb. 2.1). Nach den Regeln der IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1974) wird unter dem Begriff Vitamin B<sub>12</sub> lediglich Cyanocobalamin verstanden. In der medizinischen und pharmakologischen Literatur ist es jedoch allgemein üblich, unter den Begriff Vitamin B<sub>12</sub> alle Cobalamine zusammenzufassen, die eine biologische Wirkung beim Menschen haben.

Cyanocobalamin stellt die stabilste Cobalaminverbindung dar und findet neben Hydroxocobalamin bzw. dem damit im Gleichgewicht stehenden Aquocobalamin am häufigsten therapeutische Anwendung (Herbert 1994, Bässler 1997 S. 136). Diese Verbindungen stellen allerdings nur Vorstufen dar, die erst im menschlichen Organismus in die aktiven Coenzyme Methylcobalamin und Adenosylcobalamin umgewandelt werden. Einige Cobalamine sind empfindlich gegen Licht und sollten luftdicht und kühl aufbewahrt werden.

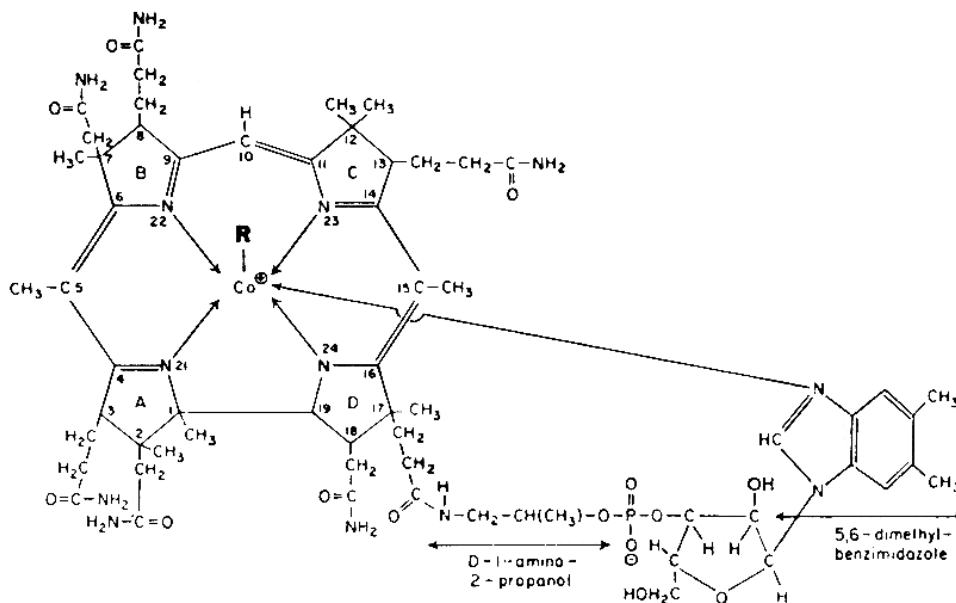
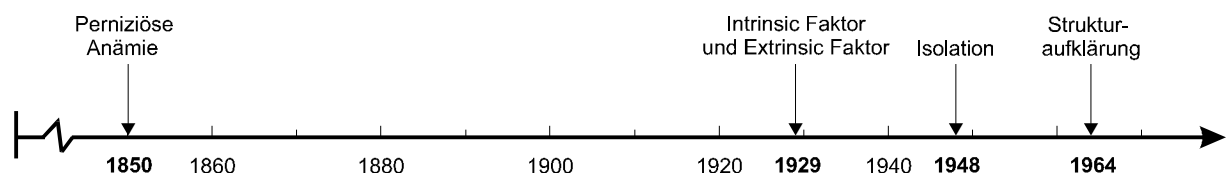


Abb. 2.1: Strukturformel von Vitamin B<sub>12</sub>

## 2.1 Geschichte

Die Geschichte des Vitamin B<sub>12</sub> ist ein relativ junges Kapitel der Vitaminforschung (Abb. 2.2). Durch den Arzt Combe wurde 1822 in England ein Fall von Anämie mit Erkrankung an den verdauenden und assimilierenden Organen beschrieben (Combe 1824). Wenige Jahre später (1950) wurde für diese Erkrankung der Name „perniziöse Anämie“ geprägt, der bis heute beibehalten wurde. Die Ursache der perniziösen Anämie wurde 1860 durch den amerikanischen Arzt Austin Flint in einer „degenerativen Erkrankung der Magendrüsen“ vermutet (Flint 1860). Minot und Murphy bekamen 1926 den Nobelpreis für die Entdeckung, daß die perniziöse Anämie durch den Verzehr von roher Leber behandelt werden kann (Minot und Murphy 1926). Drei Jahre später konnten Castle et al. (1929a, 1929b, 1930) zeigen, daß die Ursache für die perniziöse Anämie in der „Unfähigkeit zu einem essentiellen Schritt der gastrischen Verdauung“ liegt. Sie fanden heraus, daß ein gastrointestinaler (intrinsic) Faktor existiert, der zusammen mit einem Nahrungs- (extrinsic) Faktor einen Einfluß auf die Hämatopoese ausübt.

Die Isolation und Kristallisation dieses Extrinsic Faktors gelang 1948 nahezu gleichzeitig zwei pharmazeutischen Forschungsteams in den USA (Rickes et al. 1948) und in England (Smith und Parker 1948). Berk et al. (1948) stellten dann die Identität zwischen Vitamin B<sub>12</sub> und dem sog. „Antiperniziosa-Faktor“ fest. Für die Aufklärung der chemischen Struktur von Vitamin B<sub>12</sub> mit Hilfe der Röntgen-Kristallographie wurde Dorothy Hodgkin 1964 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet (Hodgkin et al. 1956, Hodgkin et al. 1962). In den folgenden Jahren gelang es, alle weiteren Cobalaminverbindungen, die eine biologische Wirkung beim Menschen haben, aufzuklären. Es wurde festgestellt, daß es sich bei Cyanocobalamin um ein „Kunstprodukt“ handelt, das durch den Einsatz bestimmter Analyseverfahren entstanden war, aber in der Natur nicht vorkommt (Jukes und Stokstad 1951, Barker et al. 1958, Weissbach et al. 1958).



**Abb. 2.2: Wichtige Stationen der Vitamin B<sub>12</sub>-Forschung**



## 2.2 Stoffwechsel

### 2.2.1 Absorption

Die Absorption von Vitamin B<sub>12</sub> ist ein komplexer und hochspezifischer Prozeß, der bisher noch nicht in allen Einzelheiten aufgeklärt ist. Dabei wird zwischen zwei prinzipiellen Absorptionsmechanismen unterschieden:

Über den **pharmakologischen Absorptionsmechanismus** werden große Mengen von oral appliziertem Cobalamin (> 150 nmol = 2 mg Cbl) über einen unspezifischen Mechanismus über den Magen-Darm-Trakt oder die intestinalen Schleimhäute aufgenommen (Doscherholmen et al. 1957, Ronnov-Jessen und Hansen 1965, Heinrich 1967). Dieser Absorptionsweg ist unabhängig von der Anwesenheit des Intrinsic Faktors, aber die Lymphe scheint dabei eine wesentliche Rolle zu spielen (Tayler und French 1960, Gräsbeck und Kouvonen 1980). Die Effizienz dieses Mechanismus ist gering; nur etwa 1 % der applizierten Menge wird resorbiert (Heinrich 1967, Chanarin 1968).

Der **physiologische Absorptionsmechanismus** kann in drei Phasen geteilt werden (Seetharam et al. 1991a):

- die gastrische Phase,
- die luminale oder intestinale Phase und
- die mucosale Phase.

Das Cobalamin der Nahrung ist weitgehend an Nahrungsproteine gebunden und liegt hauptsächlich in Form der intrazellulären Cofaktoren Adenosyl- und Methyl-Cbl vor. Diese Formen sind aber extrem empfindlich gegen Koch- und Verdauungsvorgänge. Das Cbl im Magen und übrigen Verdauungstrakt ist daher überwiegend Hydroxo-Cbl (Rothenberg und Quadros 1995). In der **gastrischen Phase** werden die Bindungen zwischen Cbl und Nahrungsproteinen durch Pepsin und Magensäure, die für den notwendigen niedrigen pH-Wert sorgt, gelöst. Das freie Cobalamin bindet dann ein „Rapid-Binder“-Protein (R-Binder), das mit dem Speichel sezerniert wird (Tab. 2.1). Die Parietalzellen des Magens geben einen Intrinsic Faktor ab, der zusammen mit dem R-Binder-Cobalamin-Komplex in das Intestinum gelangt (Gräsbeck und Kouvonen 1980, Herbert 1996). Die Bindungsaffinität von Cobalamin zum R-Binder ist bei dem niedrigen gastrischen pH-Wert etwa 50 mal höher als die Affinität zum Intrinsic Faktor (Oleson 1974, Seetharam et al. 1991). Die Spezifität des R-Binders ist dagegen nicht sehr groß; auch Vitamin-B<sub>12</sub>-Analoga, die für den menschlichen Organismus keine Vitaminfunktion besitzen, können gebunden werden (Gräsbeck und Kouvonen 1980).

**Tab. 2.1: Transportproteine der Intrinsic-Faktor-vermittelten Vitamin-B<sub>12</sub>-Absorption** (nach Seetharam et al. 1991, Gräsbeck und Kouvonen 1980, Chanarin 1990 S 28)

	<b>R-Binder</b>	<b>Intrinsic Faktor</b>	<b>IF-Cbl-Rezeptor</b>	<b>Transcobalamin II</b>
<b>weitere Bezeichnungen</b>	Cobalophillin, Haptocorrin, non-IF, TC I und III im Serum	IF, Castle'scher Faktor		TC II
<b>Vorkommen</b>	Plasma, Granulozyten, Sekrete der Verdauungsorgane	Magen und andere Verdauungsorgane	Ileale Mucosa und renaler Kortex	Plasma und in vielen Zellen Synthese: Leber, Ileumzellen, Endothelzellen, Makrophagen
<b>Funktionen beim transepithelialen Transport</b>	keine	bildet mit Cbl Komplex und bindet an Rezeptor	bindet IF-Cbl-Komplex und initiiert den Transport durch Endozytose	bindet Cbl und fungiert als „shuttle“ zur Zirkulation
<b>weitere Funktionen</b>	Transport von Cbl und Analoga im Plasma	wahrscheinlich keine	keine	Plasmatransport des absorbierten Cbl zu den Geweben
<b>Molekulargewicht</b>	60-66 kDa	45 kDa	Schwein: 200 kDa	38 kDa

In der **luminalen oder intestinalen Phase** bauen Pankreas-Proteasen wie Trypsin, Chymotrypsin und Elastase den R-Binder-Cobalamin-Komplex teilweise ab. Dadurch verliert der R-Binder seine Affinität zu Cobalamin, und das frei gewordene Cobalamin geht eine hochspezifische Bindung mit dem Intrinsic Faktor ein (Allen et al. 1978). Bei einer Pankreasinsuffizienz kann wegen fehlender Proteasen der Komplex nicht abgebaut werden und eine Bindung von Cobalamin an den Intrinsic Faktor (IF) kommt nicht zustande. Die Folge ist eine Cobalamin-Malabsorption (Guéant et al. 1986).

Das Intrinsic Faktor-Molekül hat zwei funktionell bedeutende Seiten: eine cobalamin- und eine rezeptorbindende Seite. Die cobalaminbindende Seite ist sehr spezifisch (Eisenhans und Rosenberg 1984); bereits kleine Unterschiede der verschiedenen Cobalamine können zu einem völligen Affinitätsverlust führen. Von besonderer Bedeutung ist hier der  $\alpha$ -axiale Ligand des Corringerrüsts; es können nur Moleküle mit einem 5,6-Dimethylbenzimidazol-Liganden und einer Ribazol-Seitenkette gebunden werden (Andrews et al. 1991). Der  $\beta$ -axiale Ligand (-CN, -OH, -Adenosyl oder -Methyl) spielt für die Affinität nur eine untergeordnete Rolle (Alpers et al. 1994, Linnell und Bhatt 1995). Die Bindung von Cobalamin an den Intrinsic Faktor scheint bei diesem eine Konformitätsänderung auszulösen. Die Bindung übt einen allosterischen Effekt auf die rezeptorbindende Seite des Intrinsic Faktors aus. Freier Intrinsic Faktor hat nur eine relativ geringe Affinität zu den mucosalen IF-Rezeptoren des Ileums (Gräsbeck und Kouvonen 1980). Der IF-Cbl-Komplex ist relativ stabil gegen proteolytische Verdauung; dies ist notwendig, da die Absorption erst im distalen Ileum stattfindet.

Die **mucosale Phase** der Cobalamin-Absorption findet an der Bürstensaummembran der Ileum-Mucosa statt (Booth & Mollin 1959). Dort befinden sich zwischen den Microvilli membrangebundene Rezeptoren für den Intrinsic Faktor-Cobalamin-Komplex (Levine et al. 1964). Voraussetzung für die Bindung an den Rezeptor ist die Anwesenheit freier Calcium-Ionen und ein annähernd neutraler pH-Wert (Donaldson et al. 1969, Herbert und Castle 1961, Mackenzie und Donaldson 1972, Kouvonen und Gräsbeck 1984, Bradbeer et al. 1986). Bindet der Komplex an den Rezeptor, kommt es zu einer rezeptorvermittelten Endozytose, bei der wahrscheinlich der gesamte Komplex internalisiert wird (Seetharam et al. 1985). Für diesen Vorgang ist die Anwesenheit von Ca<sup>2+</sup>-Ionen und ein neutraler pH-Wert notwendig. Für die Internalisierung des gesamten IF-Cbl-Komplexes gibt es aber bisher keine zwingenden Beweise. Unklar ist der Verbleib des IF (Rothenberg et al. 1972, Robertson und Gallagher 1985, Rothenberg und Quadros 1995). Der gleiche Rezeptor konnte inzwischen auch in der menschlichen Niere nachgewiesen werden (Ramanujam et al. 1990). Es wurde aber auch eine Cbl-Bindungsaktivität des ilealen IF-Cbl-Rezeptors beobachtet, d.h. Cbl kann ohne IF gebunden werden. Die Bedeutung ist noch unklar (Yerima et al. 1996).

Die folgenden intrazellulären Vorgänge sind noch weitgehend unbekannt. Cobalamin wird freigesetzt und in Vesikeln von der apicalen zur basolateralen Zellseite transportiert (Dix et al. 1990). Das Cbl wird in die aktiven Formen Methyl-Cbl und Adenosyl-Cbl umgewandelt (Peters et al. 1971), an Transcobalamin II gebunden und an das Pfortaderblut abgegeben (Chanarin et al. 1978, Robertson und Gallagher 1985, Ramasamy et al. 1989, Festen 1991). Es gibt Hinweise aus Tierversuchen, daß Cobalamin in Lysosomen durch den Enterocyten transportiert wird (Haradagoda und Batt 1985). Dabei ist unklar, was mit dem abgetrennten Intrinsic Faktor geschieht. Seetharam et al. (1985) vermuten, daß der Intrinsic Faktor abgebaut wird, aber auch eine immunologische Funktion wird in Betracht gezogen (Rothenberg et al. 1972). Einige Tierexperimente legen die Vermutung nahe, daß der Membranrezeptor recyclet wird und innerhalb von etwa einer halben Stunde erneut an der Zelloberfläche zur Verfügung steht (Robertson und Gallagher 1985, Kapadia et al 1983).

### 2.2.2 Transport

Hauptverantwortlich für den Cobalamin-Transport und die Versorgung der Organe ist Transcobalamin II (TC II) (Hall und Finkler 1962, Finkler und Hall 1967, Rapazzo und Hall 1972, Carmel et al 1984). Ein Mangel an TC II z.B. durch einen genetischen Defekt führt zu einer schweren megaloblastischen Anämie infolge Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels (Hakami et al 1971). Bei TC II handelt es sich um ein nicht glykosiliertes  $\beta$ -Globulin (Allen und Majerus 1972), das in großen Mengen in der Leber synthetisiert wird (Tab. 2.1) und ständig an das Plasma

abgegeben wird (Savage und Green 1976). Nach Aufnahme einer größeren Menge Cobalamin steigt die Kapazität der Cbl-bindenden Proteine im Plasma an und freies TC II bindet innerhalb von Minuten das freie Cbl. Der TC-II-Cbl-Komplex wird auch holo-TC II genannt, das freie TC II apo-TC II. Die freie Bindungskapazität des Plasmas ist also in erster Linie von seinem TC-II-Gehalt abhängig. Wegen des raschen Umsatzes und Abbaus des TC-II-Cbl-Komplexes sind aber in vivo nur etwa 20-30 % des zirkulierenden Vitamin B<sub>12</sub> an Transcobalamin II gebunden (England et al. 1976, Nexo und Anderson 1977). Die Halbwertszeit des Komplexes beträgt ungefähr 60 min (Chanarin 1990). Der größte Teil des Plasma-Cobalamins ist an R-Binder, überwiegend Transcobalamin I, gebunden; sie haben eine relativ lange Halbwertszeit von etwa 9 Tagen.

Cobalamin, das nach der Absorption im Dünndarm an das Pfortaderblut abgegeben wird, liegt an Transcobalamin II gebunden vor. Es wird durch das Blutssystem zur Leber, Knochenzellen und anderen Geweben transportiert, die den Transcobalamin-II-Vitamin-B<sub>12</sub>-Komplex über rezeptorvermittelte Endozytose aufnehmen (Jakobsen et al 1980, Kishimoto et al. 1987). Die Zellen verfügen dafür an ihrer Oberfläche über spezielle Rezeptoren. Für die Aufnahme des Komplexes ist die Anwesenheit von Ca<sup>2+</sup>-Ionen und ein pH > 6 notwendig (DiGiramolo und Huennekens 1975). Das TC II wird nach der Aufnahme in die Zelle abgebaut, der Rezeptor wahrscheinlich recyclet (Lindemans et al. 1989). Leberzellen haben darüber hinaus weitere Rezeptoren für die Aufnahme von TC-I- und TC-III-gebundenem Vitamin B<sub>12</sub> (Allen 1975). Cbl wird in das Cytosol freigesetzt und dort anschließend zu Methyl-Cbl oder in den Mitochondrien zu Adenosyl-Cbl umgewandelt.

### 2.2.3 Speicher und Körperverteilung

Die Gesamtkörperspeicher an Cbl, die bei einer üblichen gemischten Kostform beobachtet werden, betragen zwischen 2.5 und 5 mg. Der größte Anteil (etwa 50 %) wird in der Leber gespeichert. Darüber hinaus haben auch Muskeln (8.6 %), Darm (4.5 %) und Knochen (4.4 %) nennenswerte Mengen Cbl gespeichert. Bei einem Körperspeicher von 3 mg und einem geschätzten täglichen Bedarf von 1 µg Cbl reichen die Speicher etwa 3000 Tage (Chanarin 1990 S. 27).

In den Körperzellen liegt Cbl im Cytosol in Form von Methyl-Cbl und in den Mitochondrien in Form von Adenosyl-Cbl vor, wobei letzteres die größte Menge des in den Geweben vorkommenden Cbl's ausmacht. Die Leber enthält etwa 61 % Desoxyadenosyl-Cbl und nur etwa 1 % Methyl-Cbl; dagegen liegt Cbl im Plasma (65 %) und in der Milch (58 %) überwiegend als Methyl-Cbl vor (Chanarin 1990).

## 2.2.4 Exkretion und enterohepatischer Kreislauf

Vitamin B<sub>12</sub> hat eine sehr lange biologische Halbwertszeit, die durch einen effizienten enterohepatischen Kreislauf bewirkt wird. Cobalamine werden über Urin, Galle und Faeces ausgeschieden; die Gesamtverluste betragen zwischen 2 und 5 µg/d. Die Ausscheidung über den Urin durch glomeruläre Filtration ist mit 0,0 bis 0,25 µg/d minimal (Shinton 1972). Ungefähr 0,5 - 5 µg/d Vitamin B<sub>12</sub> wird in den Verdauungstrakt abgegeben. Der Cbl-Gehalt der Gallenflüssigkeit schwankt zwischen 1000 und 11000 pg/ml. Etwa 65 - 70 % des Cbl werden im Ileum an freien IF gebunden und reabsorbiert. Freier IF im Dünndarm ist für das Funktionieren dieses Kreislaufes von größter Bedeutung (Kapadia et al. 1976). Dieser effiziente Mechanismus und die große Speicherfähigkeit ist dafür verantwortlich, daß Mangelerscheinungen bei unzureichender Zufuhr erst nach Jahren auftreten.

Mit Hilfe des enterohepatischen Kreislaufes werden Cobalaminanaloga bevorzugt ausgeschieden, während aktives Vitamin B<sub>12</sub> überwiegend reabsorbiert wird. Eine der Hauptaufgaben des enterohepatischen Kreislaufes scheint neben der Aufnahme von aktivem Vitamin B<sub>12</sub> die Elimination von Vitamin-B<sub>12</sub>-Analoga zu sein (Kanazawa und Herbert 1983).

## 2.3 Funktionen

Biochemische Reaktionen, an denen Cbl beteiligt ist, unterscheiden sich prinzipiell in zwei Arten: **die Adenosyl-Cbl- und die Methyl-Cbl-Reaktionen**. Bei Mikroorganismen sind bisher 13 Cbl-abhängige Reaktionen bekannt, davon 10 Reaktionen mit Adenosyl-Cbl und 3 Reaktionen mit Methyl-Cbl. Beim Menschen konnten bisher nur **2 Reaktionsmechanismen** nachgewiesen werden.

Die Umwandlung von Cbl in seine Coenzym-Formen wird von der Vitamin-B<sub>12</sub>-Coenzym-Synthetase katalysiert, die in vielen Körperzellen vorkommt. Dabei wird Cbl, das mit der Nahrung aufgenommen wurde, zu einer Cbl-Form mit einwertigem Cobaltatom reduziert im Cytosol zu Methyl-Cbl oder nach Transport in die Mitochondrien zu Adenosyl-Cbl umgewandelt.

Die Reaktionen von **Adenosyl-Cbl** sind Umlagerungsreaktionen; es fungiert dabei als H<sup>+</sup>-Überträger. Beim Menschen ist nur eine Reaktion bekannt. Es handelt sich dabei um die Umwandlung von Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA, einer Teilreaktion beim Abbau von Fettsäuren mit einer ungeraden Anzahl an C-Atomen. Bei Cbl-Mangel wird Methylmalonyl-CoA zu Methylmalonsäure abgebaut.

Enzymgebundenes **Methyl-Cbl** ist Methylgruppenüberträger bei der Synthese von Methionin aus Homocystein (HCY). Die Synthese erfolgt in 2 Stufen:

- (1) N<sup>5</sup>-Methyltetrahydrofolate + Enzym•Cbl ⇒ Tetrahydrofolat + Enzym•Methyl-Cbl  
 (2) Enzym•Methyl-Cbl + Homocystein ⇒ Enzym•Cbl + Methionin

Cbl-Mangel führt zu einer Anreicherung von Homocystein (HCY) und einem Mangel an Tetrahydrofolat im Organismus.

Trotz seiner begrenzten Anzahl an Reaktionen spielt Cbl im Organismus durch seine Verknüpfung mit dem Folat-Stoffwechsel und seine Funktion bei der Überführung von N<sup>5</sup>-Methyltetrahydrofolat in seine biologisch aktive Form Tetrahydrofolat eine wichtige Rolle.

## 2.4 Vorkommen

Cobalamin kann nur von Mikroorganismen synthetisiert werden. Mensch und Tier sind daher auf eine exogene Zufuhr angewiesen. Verschiedene Tierarten verfügen über eine cobalaminproduzierende Pansen- und/oder Darmflora; diese enterale Cobalamin-Synthese von Mikroorganismen leistet einen mehr oder weniger großen Beitrag zur Bedarfsdeckung. Die gastroenterale Synthese bei Wiederkäuern (Herbivoren) stellt eine für diese Tiere ausreichende Cobalamin-Quelle dar; carnivor lebende Tiere sind zusätzlich auf eine Cobalamin-Aufnahme durch Fleisch oder andere Produkte tierischer Herkunft angewiesen (Chanarin 1990).

Der Mensch kann enteral synthetisiertes Vitamin B<sub>12</sub> nur unzureichend ausnutzen und muß daher seinen Bedarf über die Nahrung decken. Wesentliche Vitamin-B<sub>12</sub>-Quellen sind tierische Produkte. Besonders reichhaltig an Vitamin B<sub>12</sub> sind innere Organe wie Leber, Niere und Herz, aber auch andere Fleischsorten, Fisch und Milchprodukte enthalten moderate Mengen (Tab. 2.2).

**Tab. 2.2: Cobalamin-Gehalt ausgewählter Lebensmittel** (nach Bundeslebensmittelschlüssel BLS II.2, von den Berg 1988)

Lebensmittel	Gehalt (µg/100 g)	Lebensmittel	Gehalt (µg/100 g)
<b>Rindfleisch</b>		<b>Fisch</b>	
Leber	65,0	Hering	10,0
Steak, Kotelett, Filet	2,0 - 5,0	Forelle	5,0
<b>Kalbfleisch</b>		Barsch	1,0
Leber	60,0	<b>Milch / -produkte</b>	
Muskelfleisch	1,0 - 1,3	Vollmilch	0,4
<b>Schweinefleisch</b>		Joghurt	0,4
Leber	39,0	Quark	0,8
Muskelfleisch	1,9 - 2,0	Schnittkäse	1,9
<b>Geflügel</b>		<b>Eier</b>	
Huhn	0,4	Hühnerei	2,0
<b>Algen</b>			
Spirulina	48,4	Wakame	4,6
Nori	12,0-68,8	Kombu	2,8

Pflanzliche Kost ist nahezu frei von Vitamin B<sub>12</sub>; lediglich in mikrobiell kontaminierten Pflanzen kann Cobalamin gefunden werden. Pflanzen wie die Leguminosen, die in Symbiose mit Vitamin-B<sub>12</sub>-synthetisierenden Mikroorganismen leben, können geringe Spuren enthalten. Gleiches gilt für mikrobiell vergorene Produkte pflanzlicher Herkunft wie Sauerkraut, Kimchi und Bier. Größere Mengen an Cobalamin wurden in einigen Algen gefunden; die Bioverfügbarkeit scheint aber fraglich (van den Berg 1988, Dagnelie et al. 1991, Yamada et al. 1997).

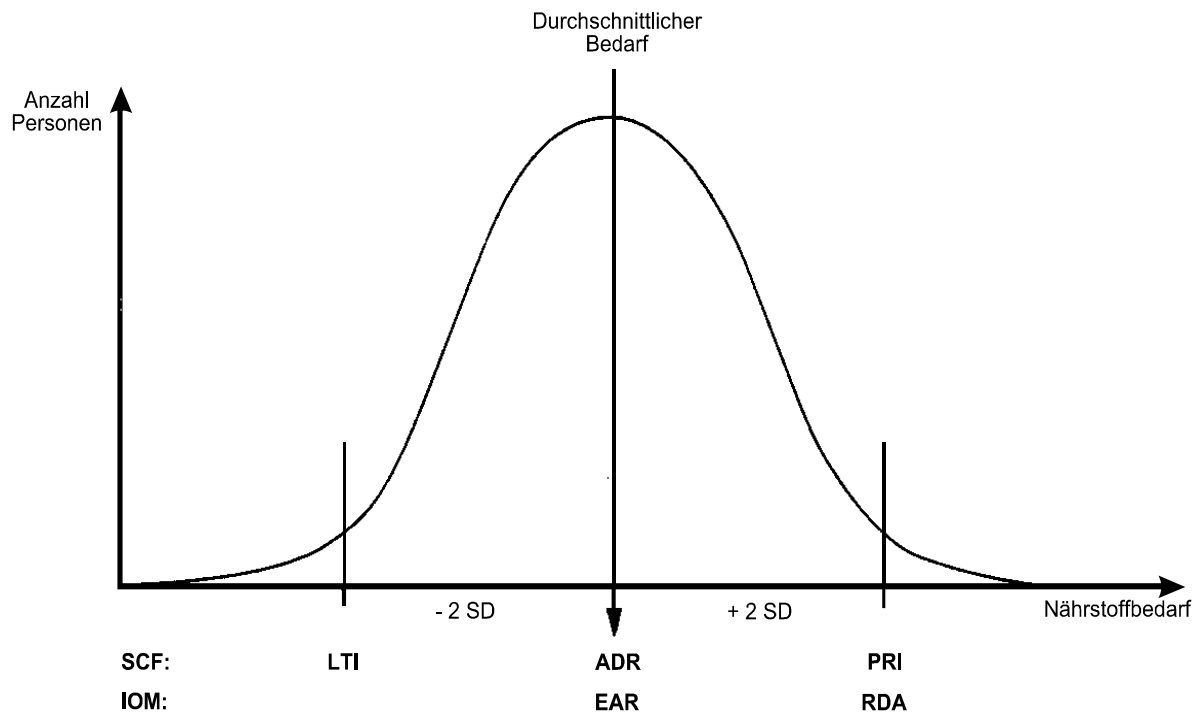
Mozafar (1994) stellte einen erhöhten Gehalt an Cobalamin in Spinat und Gerste nach Einsatz von organischem Dünger fest und schloß daraus, daß Pflanzen in der Lage sind, Vitamin B<sub>12</sub> über die Blätter aufzunehmen. Diese Beobachtungen beruhen jedoch auf einem methodischen Fehler beim Waschen des Substrats (Craig 1997).

## 2.5 Bedarf und Empfehlungen in Schwangerschaft und Stillzeit

Der Nährstoffbedarf ist die Menge eines Nährstoffes, die objektiv für die Aufrechterhaltung aller Funktionen des Organismus notwendig ist. Er ist individuell verschieden und von inneren und äußeren Einflüssen auf das Individuum abhängig. Die Empfehlungen für die Nährstoffzufuhr internationaler und nationaler Kommissionen sind höher als die durchschnittliche Bedarfsmenge, um eine adäquate Zufuhr für die meisten gesunden Personen zu gewährleisten. Zu den Empfehlungen gelangt man, indem unter Annahme einer Gauß'schen Normalverteilung dem mittleren Bedarfswert die zweifache Standardabweichung hinzugerechnet wird (Abb. 2.3). International wird dazu übergegangen, diese Empfehlungen weiter zu differenzieren. Das Scientific Committee of Food (SCF) der europäischen Gemeinschaft (SCF 1993) unterscheidet einen unteren Schwellenwert (**L**owest **T**hreshold **I**ntake = LTI), einen durchschnittlichen Bedarf (**A**verage **D**ietary **R**equirement = ADR) und einen Referenz-Zufuhrwert (**P**opulation **R**eference **I**ntake = PRI). Das Food and Nutrition Board des Institute of Medicine (IOM) in den USA unterscheidet zwischen einem geschätzten durchschnittlichen Bedarf (**E**stimated **A**dequate **R**equirement = EAR) und der empfohlenen Zufuhr (**R**ecommended **D**ietary **A**llowances = RDA) (IOM 1998).

Die Bedarfsempfehlungen in der Schwangerschaft beruhen aufgrund eines Mangels an wissenschaftlichen Daten auf theoretischen Schätzungen, die zum einen den Bedarf des Fetus und zum anderen einen erhöhten Bedarf der Mutter während der Schwangerschaft berücksichtigen. Der Fetus benötigt während der Schwangerschaft für den Aufbau eigener Speicher etwa 0.1 - 0.2 µg Vitamin B<sub>12</sub>/d (Baker et al. 1962, Loria et al. 1977, Vaz Pinto et al. 1975). Es gibt einige Hinweise darauf, daß die Effizienz der Vitamin-B<sub>12</sub>-Absorption während

der Schwangerschaft steigt; ein erhöhter Bedarf der Mutter wird nicht angenommen. Die wichtigsten internationalen Empfehlungen sind in Tabelle 2.3 zusammengefasst. Das IOM (1998) empfiehlt daher eine tägliche Zufuhr von 2.2 µg/d (EAR) bzw. 2.6 µg/d (RDA). Die RDA für die Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr wurden damit nach der drastischen Senkung 1989 wieder leicht angehoben (NRC 1989).



**Abb. 2.3:** Häufigkeitsverteilung der individuellen Nährstoffbedarfswerte und Zufuhrempfehlungen (modifiziert nach SCF 1993; IOM 1998)

Die deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) empfiehlt für Schwangere eine Zufuhr von 3.5 µg Vitamin B<sub>12</sub> pro Tag. Dieser Wert ist um 0.5 µg höher als der Vergleichswert für nicht schwangere, erwachsene Frauen. Die erhöhte Zufuhrempfehlung wird mit „Sicherheitsmaßnahmen für den Fall einer unerkannten vorbestehenden Verminderung der Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher begründet und soll zum Erhalt einer hohen Nährstoffdichte dienen (Tab. 2.3).

**Tab. 2.3:** Zufuhrempfehlungen (µg/d) von DGE (1991), SCF (1993), IOM (1998) und WHO/FAO (1988) ausgewählter Personengruppen

Personengruppe	DGE	SCF			IOM		FAO/ WHO
		LTI	ADR	PRI	EAR	RDA	
Frauen	3.0	0.6	1.0	1.4	2.0	2.4	1.0
Schwangere	3.5	0.8	1.2	1.6	2.2	2.6	1.4
Stillende	4.0	1.1	1.5	1.9	2.4	2.8	1.3



Die Empfehlungen des SCF (1993) in der Schwangerschaft zusätzlich etwa 0.2 µg/d aufzunehmen, gleichen denen des IOM und der DGE. Der geschätzte Bedarf für erwachsene Personen zur Vermeidung von Mangelerscheinungen wird jedoch erheblich niedriger angesetzt als von dem IOM und der DGE. Sie liegen bei Schwangeren sogar noch unterhalb der Empfehlungen von FAO/WHO (1988).

## 2.6 Bioverfügbarkeit und die Bedeutung von Cobalamin-Analoga

Über die Bioverfügbarkeit von Vitamin B<sub>12</sub> aus der Nahrung ist bisher wenig bekannt. Es ist weitgehend an Nahrungsproteine gebunden, die Bioverfügbarkeit hängt u.a. von der Art der Bindung ab. Aus verschiedenen Fleischsorten kann vorhandenes Cobalamin ähnlich gut resorbiert werden wie vergleichbare Mengen Cyanocobalamin. Die Bioverfügbarkeit des Vitamin B<sub>12</sub> aus Eiern ist erheblich geringer (Doscherholmen et al. 1978). Heinrich (1990) gibt die durchschnittliche Bioverfügbarkeit von Vitamin B<sub>12</sub> aus Fleisch mit 60 %, aus Fisch mit 40 % und aus Eiern mit 30 % an. Auch die Art der Zubereitung kann die Bioverfügbarkeit beeinflussen. Bei gebratenen oder gekochten Eiern wurde eine höhere Absorptionsrate gemessen als bei rohem Ei (Levine und Doscherholmen 1983). Durch einen Erhitzungsprozeß kann Vitamin B<sub>12</sub> aus Peptidverbindungen gelöst werden und damit die Bioverfügbarkeit erhöht werden; gleichzeitig kann es aber auch zu Zubereitungsverlusten der hitzelabilen Cobalaminverbindungen von 10-90 % kommen (FAO/WHO 1988).

Der limitierende Faktor für die IF-gesteuerte Vitamin-B<sub>12</sub>-Absorption ist die Aufnahme des IF-Cbl-Komplexes in die ileale Mucosa. Eine zusätzliche Verabreichung von IF, der normalerweise in ausreichender Menge sekretiert wird, konnte keine Steigerung der Absorption bewirken. Die anteilig absorbierte Menge ist daher dosisabhängig. Je höher die oral zugeführte Dosis, desto niedriger der prozentual absorbierte Anteil. Pro Mahlzeit werden etwa 1,5 - 2,0 µg Vitamin B<sub>12</sub> absorbiert. Werden pharmakologische Mengen an Vitamin B<sub>12</sub> oral verabreicht, steigt die Absorption aufgrund einer passiven Diffusion von Vitamin B<sub>12</sub> in die Darmschleimhaut weiter an. Im Alter kann mit nachlassender Sekretion von IF auch die Bioverfügbarkeit von Vitamin B<sub>12</sub> sinken (Scott 1996). Bei Störungen der Magensaftsekretion, wie sie in der Schwangerschaft vorkommen, sind ähnliche Folgen denkbar.

Bisher nicht befriedigend geklärt ist die Frage der Bioverfügbarkeit von enteral synthetisiertem Vitamin B<sub>12</sub>. Da Vitamin B<sub>12</sub> ausschließlich im Dünndarm absorbiert wird, kann von Darmbakterien im Colon produziertes Vitamin B<sub>12</sub> nicht zur Versorgung beitragen. In einer Studie von Albert et al. (1980) konnte nachgewiesen werden, daß in der Dünndarmflora vorhandene *Pseudomonas*- und *Klebsiella*-Stämme größere Mengen Cobalamin synthetisieren. Freier IF ist im Jejunum und Ileum in ausreichender Menge

vorhanden und könnte diese Cobalamine binden und für eine Absorption sorgen (Kapadia 1976). Da diese Studien vor der Verfügbarkeit von Bestimmungsmethoden, die zwischen biologisch für den Menschen aktivem und nicht aktivem Vitamin B<sub>12</sub> unterscheiden können, durchgeführt wurden, ist nicht nachvollziehbar, wieviel des bakteriell produzierten Cobalamins tatsächlich für den Menschen eine Vitaminfunktion besitzt (Herbert 1988). Von besonderer Bedeutung könnte der Bakterienstamm *Bacteroides fragilis* sein, der den oberen Bereich des Dünndarms besiedelt und sowohl Vitamin B<sub>12</sub> als auch Cobalaminanaloga produziert. Herbert et al. (1984) konnten zeigen, daß Cobalaminanaloga im menschlichen Serum, der Galle und einigen Organen von Darmbakterien stammen. Sie vermuten, daß Cobalaminanaloga aufgrund ihrer Fettlöslichkeit zusammen mit kurzkettigen Fettsäuren durch passive Diffusion absorbiert werden.

Das verzögerte Auftreten von Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel in den sogenannten Entwicklungsländern, die streng vegetarisch ernährt werden, kann auch auf eine geringe Hygiene zurückzuführen sein. Wie Callender und Spray (1962) nachweisen konnten, enthält der menschliche Faeces ausreichend Vitamin B<sub>12</sub>, um damit einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel zu heilen. Durch eine Verunreinigung der Nahrung und Fingerlutschen nach der Defäkation bei Kindern kann einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel hinausgezögert oder sogar verhindert werden (Dwyer 1991; Hawala und Dwyer 1993).

Der Einfluß von Vitamin C, das in Megadosen (> 1000 mg) aufgenommen wird, auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin B<sub>12</sub> aus der Nahrung ist umstritten. Aufgrund einiger Studien wird ein Zusammenhang zwischen solchen Megadosen und dem Auftreten von Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel vermutet. Vitamin C soll vor allem in Anwesenheit von Eisen durch die Katalyse von Redox-Reaktionen eine Zerstörung von Vitamin B<sub>12</sub> und eine Zerstörung von IF bewirken (Herbert et al. 1978; Hines 1975; Herbert 1995). Mittlerweile wird jedoch davon ausgegangen, daß diese Beobachtungen auf der Wirkung der Ascorbinsäure auf den Radioisotopenassay für Vitamin B<sub>12</sub> und damit auf einem methodischen Fehler beruhen (Rivers 1989; IOM 1998 S 9-11).

In Multivitamin-Präparaten können zwischen 10-30 % des Vitamin B<sub>12</sub> in Cbl-Analoga umgewandelt werden, die für den Menschen keine Vitaminfunktion mehr haben (Herbert et al. 1982). Kondo et al. (1982) stellten fest, daß einige Cbl-Analoga sogar in der Lage sind, in Säugetierzellen die Vitamin-B<sub>12</sub>-abhängigen Reaktionen durch eine Blockade der entsprechenden Enzymsysteme zu behindern.

## 2.7 Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel

Ein Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel beruht im wesentlichen auf einer unzureichenden Zufuhr, einer Malabsorption und Defekten bei den Transportmechanismen für Vitamin B<sub>12</sub>. Eine mangelhafte Versorgung kann durch eine Vitamin-B<sub>12</sub>-arme Ernährung entstehen. Aufgrund der hohen Speicherfähigkeit ist erst nach Jahren mit ernsthaften Mangelercheinungen zu rechnen. Gründe für eine verminderte Absorption von Vitamin B<sub>12</sub> sind z.B. Verdauungsstörungen oder Operationen im Gastrointestinaltrakt. Eine verminderte Verwertung kann bei Einnahme bestimmter Pharmaka (Vitamin-B<sub>12</sub>-Antagonisten) und bei angeborenen oder erworbenen Störungen im Vitamin-B<sub>12</sub>-Stoffwechsel auftreten.

Der Übergang von einer normalen Vitamin-B<sub>12</sub>-Bilanz bis hin zum manifesten Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel lässt sich nach Herbert (1994, 1996) in 4 Stadien unterteilen: Die ersten beiden Stadien umfassen dabei lediglich Anzeichen einer Speicherdepletion, die beiden letzten Stadien stellen bereits einen Mangel an Vitamin B<sub>12</sub> dar. Das erste Stadium ist durch erniedrigte Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum gekennzeichnet und stellt die erste Stufe einer negativen Vitamin-B<sub>12</sub>-Bilanz dar. Hält dieser Zustand über längere Zeit an, werden die Körperspeicher angegriffen. Im zweiten Stadium ist eine fortgeschrittene Depletion mit einer beginnenden Reduzierung der Vitamin-B<sub>12</sub>-Zellspeicher erkennbar, im dritten Stadium bereits ein biochemischer Mangel an Vitamin B<sub>12</sub> mit einer mangelhaften Erythropoese und anderen Funktionsstörungen. Diese Funktionsstörungen sind durch eine ungenügende Vitamin-B<sub>12</sub>-Bereitstellung für die Vitamin-B<sub>12</sub>-abhängigen Reaktionen im Körper bedingt. Im vierten und letzten Stadium kann dann von einem klinisch manifesten Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel gesprochen werden, in dem Anämie und Nervenschädigungen vorliegen. Je nach Dauer dieses Zustandes können Schädigungen auftreten, die nicht mehr reversibel sind (Herbert 1996).

Ein Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel führt zu einer Anreicherung von Homocystein und Methylmalonat sowie einem Mangel an Tetrahydrofolat im Organismus. Er führt beim Menschen zu einer megaloblastischen Anämie, einer charakteristischen Neuropathie und Infertilität. Frauen, die einen schweren Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel aufweisen, werden daher nur sehr selten schwanger (Chanarin 1990). Weiterhin kann es zu einer schweren Degeneration bestimmter Rückenmarksbezirke (funiculäre Myelose) kommen. Aufgrund der biochemischen Zusammenhänge von Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure kommt es bei Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel zu einer Störung der Zellbildung verursacht durch eine verlangsamte DNA-Synthese. Die Stammzellenteilung im Knochenmark ist vermindert. Infolgedessen werden vergrößerte und formanormale Erythrozyten in geringerer Zahl an das Blut abgegeben. Da die Zellen einen erhöhten Hämoglobingehalt aufweisen, wird von einer makrozytären und hyperchromen Anämie

gesprochen (Green 1995). Die hämatologischen Symptome eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels gleichen dem eines Folsäuremangels.

Die neurologischen Symptome eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels sind sehr breit und teilweise unspezifisch. Dazu gehören Taubheitsgefühle, Ataxie (Gangstörungen), Anosmie (Geruchstörungen), fäkale Inkontinenz, Ermüdungserscheinungen in den Beinen, eine eingeschränkte manuelle Geschicklichkeit, Gedächtnisschwäche und Impotenz. Eine Neuropathie allein kommt bei etwa 25 % der Patienten mit Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel vor, eine Myelopathie allein bei etwa 12 %. Unter einer Kombination von Neuropathie und Myelopathie leiden etwa 41 % der Patienten (Green und Kinsella 1995).

Da die Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher der Leber sehr groß sind und die Leberzellen über Rezeptoren für holo-TC II und holo-Haptocorrin verfügen, kann es bereits frühzeitig zu Einschränkungen oder Schädigungen in anderen Organen kommen, die nur geringe Speicher und nur Rezeptoren für holo-TC II haben. Während die Leberzellen noch ausreichend versorgt sind, können die blutbildenden Zellen des Knochenmarks und die Gliazellen des Nervensystems bereits einen biochemischen oder klinischen Mangel aufweisen (Scott et al. 1981; Stabler et al. 1990).

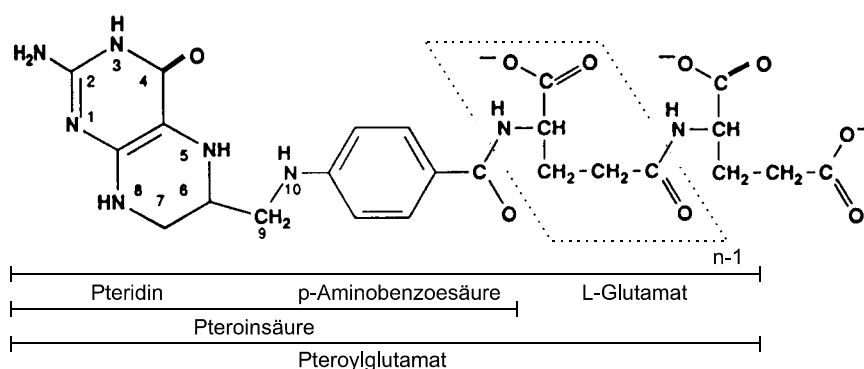
Im Gegensatz zu dem Mechanismus der megaloblastischen Veränderungen im Blut ist über die biochemische Basis der neurologischen Veränderungen im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel wenig bekannt. Von den 2 biochemischen Reaktionen im menschlichen Körper, die Vitamin-B<sub>12</sub>-abhängig sind, spielt vermutlich die Methionin-Synthase-Reaktion die größere Rolle bei der Entstehung der Nervenschädigungen. Das Produkt dieser Reaktion, Methionin, wird zu S-Adenosylmethionin umgewandelt, das für alle Methylierungsreaktionen benötigt wird, einschließlich der Myelin-Phospholipide (Metz 1992; Green 1994). Bisher ist aber nicht bekannt, warum diese neurologischen Veränderungen kaum im Zusammenhang mit einem Folsäuremangel auftreten, obwohl die Methionin-Synthase Folsäure ebenfalls als Co-Substrat benötigt (Green 1995). Die zweite Reaktion im menschlichen Körper, die Vitamin B<sub>12</sub> benötigt, betrifft die Umwandlung von Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA. Die Anreicherung von Methylmalonat und Propionat infolge eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels führt vermutlich zu abnormalen Produkten der Fettsäuresynthese, die dann in die Myelinscheide eingebaut werden (Cardinale et al.).

### 3 Folsäure

Folsäure ist ein allgemeiner Begriff für ein wasserlösliches B-Vitamin, das in verschiedenen chemischen Formen existiert. Es besteht aus einem 2-Amino-4-Hydroxypteridinring, der über eine Methylengruppe an der C-6-Position mit p-Aminobenzoyl-Glutamat verbunden ist (Wagner 1995) (Abb. 3.1). In natürlichen Lebensmitteln kommen verschiedene Verbindungen vor, die sich lediglich in der Anzahl der Glutamylreste unterscheiden, die am Pteridin-p-Aminobenzoessäure-Komplex gebunden sind. Sie werden danach in Pteroylmonoglutamate, -triglutamate, -heptaglutamate bzw. -polyglutamate eingeteilt. Natürlich vorkommende Folate sind reduzierte Derivate; das vollständig oxidierte Pteroylglutamat (PteGlu) ist ein Kunstprodukt der Isolierung und kommt nur in Lebensmitteln vor, die mit Folsäure angereichert worden sind (Shane 1995; Bässler et al. 1997).

Die biologisch aktive Form der Folsäure sind die 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure (THF) und ihre Derivate. Über 2 schrittweise Reduktionen entsteht aus Folsäure erst Dihydrofolsäure (DHF) und dann THF. Im menschlichen Organismus kommen 5 verschiedene Coenzymformen der Folsäure vor: 10-Formyl-THF, 5,1-Methenyl-THF, 5-Formimino-THF, 5,10-Methylen-THF und 5-Methyl-THF (Bässler 1997).

Folsäure ist ein hitzelabiles und lichtsensitives, wasserlösliches Vitamin. Die reduzierten Formen der Folsäure sind weniger stabil als die oxidierten. Die Stabilität variiert in Abhängigkeit von der Substitution von N-5 und/oder N-10 mit 1-Kohlenstoffresten (Methyl-, Formyl-, Formiat-, Hydroxymethylreste) (Shane 1995).



**Abb. 3.1: Strukturformel von Tetrahydropteroylpoly- $\gamma$ -glutamate (=Folsäure)** (nach Shane 1995)

### 3.1 Geschichte

Die Geschichte der Folsäureforschung ist eng mit der Geschichte des Vitamin B<sub>12</sub> verbunden, da die enge physiologische Verknüpfung der beiden Vitamine und die ähnlichen Symptome im Mangel eine klare Trennung der Vitamine ohne genauere Kenntnis unmöglich machte (Abb. 3.2).

Erste Berichte von Krankheiten, die heute als mutmaßlicher Folatmangel identifiziert werden können, stammen aus den Jahren 1824 von Channing, 1861 von Barclay und 1919 von Osler (dargestellt bei Herbert 1998). Minot und Murphy (1926) stellten fest, daß sich der Verzehr von grünen Blattgemüsen und Früchten bei Anämie-Patienten positiv auf den Krankheitsverlauf auswirkt. Im Jahre 1931 beschreibt Wills eine Form der macrozytären Anämie bei Hindu-Frauen in Bombay, die meist in der Schwangerschaft auftrat. Eine ähnliche Anämieform, die daraufhin bei Affen erzeugt wurde, konnte bei Verabreichung eines unverarbeiteten Leberextraktes geheilt werden. Eine Heilung erfolgte jedoch nicht bei Einsatz eines aufbereiteten Leberextraktes. Es wurde vom sogenannten „Wills-Faktor“ gesprochen, der sich später als Folsäure herausstellte, während in dem stärker aufbereiteten Extrakt fast ausschließlich Vitamin B<sub>12</sub> vorgefunden wurde. Die Gewinnung von reiner Folsäure (PteGlu) gelang erstmals 1943 (Stokstad 1943), seine Kristallisation im gleichen Jahr (Pfiffner et al. 1943). Die endgültige strukturelle Identifikation gelang einem Team von 16 Wissenschaftlern 1945 (Angier et al. 1945). Die Veröffentlichung der kompletten Struktur von Folsäure erfolgte erst 1946 (Angier et al. 1946).

Der Begriff „Folsäure“ wurde 1941 von Mitchell und Kollegen eingeführt, da sie Folsäure in grünem Blattgemüse (folium, lateinisch: Blatt) nachweisen konnten (Mitchell et al. 1941). Bis 1951 konnten die meisten Aufgaben der Folsäure beim Transfer von 1-Kohlenstoffeinheiten im Organismus aufgeklärt werden (Welch and Nichol 1952, Welch 1983).

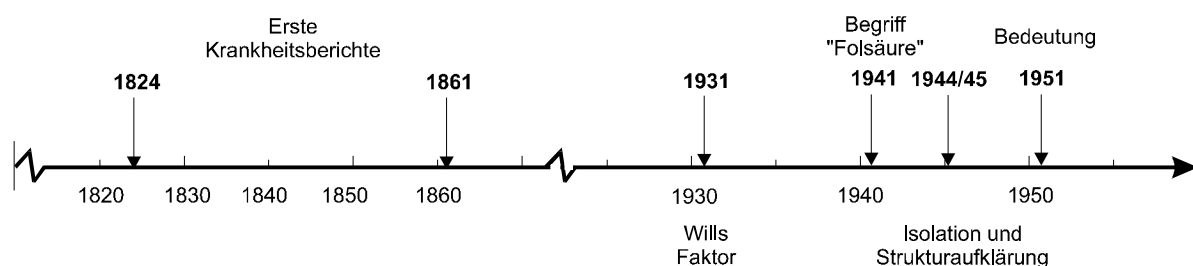


Abb. 3.2: Wichtige Stationen der Folsäure-Forschung

## 3.2 Stoffwechsel

### 3.2.1 Absorption

Die Absorption von Folsäure findet im Jejunum statt und ist in 2 Abschnitte gegliedert: die **Hydrolyse und der intestinale Transport**. In Lebensmitteln vorkommende Folate sind meist Derivate von Polyglutamaten ( $\text{PteGlu}_n$ ), die erst im Gastrointestinaltrakt zu Monoglutamat-Formen hydrolysiert werden müssen (Rosenberg 1969), bevor sie über die intestinale Mucosa absorbiert werden. Das dafür notwendige Enzym Folathydrolase konnte bisher in Pankreas (Jagerstad et al. 1972), Leber (Silink et al. 1975) und Galle (Bernstein et al. 1970) sowie an der jejunalen Bürstensaum-Membran (Wang et al. 1986) nachgewiesen werden. Diese Bürstensaum-Hydrolase kann sowohl funktionell als auch chromatographisch von den anderen Folathydrolasen unterschieden werden (Halsted 1990). Sie ist eine Exopeptidase mit einem neutralen pH-Optimum und offenbar gleicher Affinität für  $\text{PteGlu}_n$  verschiedener Kettenlänge (Halsted 1990). Verschiedene Faktoren in Lebensmitteln können die Aktivität der Hydrolase beeinflussen (s. Kap. 3.6). Die Bioverfügbarkeit von Monoglutamaten ist deutlich höher als die Bioverfügbarkeit von Polyglutamaten, da sie nicht erst hydrolysiert werden müssen.

Der **physiologische Absorptionsmechanismus** von Folsäure ist ein komplexer Prozeß, der nur mit Monoglutamyl-Formen des Vitamins abläuft. Es handelt sich um einen sättigbaren, Carrier-vermittelten, pH-abhängigen Prozeß, der bei luminalen Folatkonzentrationen unter  $5 \mu\text{mol/L}$  abläuft (Dhar et al. 1977). Bei höheren Konzentrationen tritt ein **pharmakologischer Absorptionsmechanismus** in Kraft, der nicht sättigbar ist (Selhub et al. 1983, Mason 1990).

Über den Carrier-vermittelten Absorptionsmechanismus selbst sowie über den Mechanismus, durch den die Folate die Mucosazellen durchqueren und an der basolateralen Seite wieder in das Portalblut freigesetzt werden, ist bisher wenig bekannt.

Es scheint sich um ein Carriersystem für alle Folatformen zu handeln, das eine ähnliche Affinität für Folsäure, reduzierte Folate und antifolatwirksame Substanzen besitzt (Mason 1990). Ein neutraler pH-Wert im Intestinum scheint dabei die Affinität zu erhöhen (Mason et al. 1990). Die Absorptionsrate von Folaten ist im proximalen Jejunum größer als im distalen. Im Ileum dagegen scheinen Carrier-Systeme entweder nicht vorhanden oder mutiert zu sein, da dort keine Carrier-vermittelte Resorption stattfindet (Mason 1990).

Die über den physiologischen Absorptionsmechanismus aufgenommenen Folate werden während des Transportprozesses durch die Darmenterozyten teilweise umgewandelt - besonders zu 5-Methyl-THF, obwohl diese Umwandlung nicht für den Transport notwendig zu sein scheint. Der Grad der Umwandlung ist dabei abhängig von der Höhe der verabreichten Folatmenge. Bei hohen Folatkonzentrationen im Darm erscheint der größte

Anteil des Vitamins unverändert im Portalblut (Selhub et al. 1973, Strum 1979). Von Said und Redha (1987) wurde ein sättigbares Transportsystem in der basolateralen Membran von Enterozyten im Darm von Ratten identifiziert, das ähnlich dem Bürstensaum-Transporter zu sein scheint, aber weder Natrium- noch Kalium-abhängig ist.

### 3.2.2 Transport

Über den Mechanismus, durch den die absorbierten Folate aus dem Enterozyten an das Portalblut abgegeben werden, ist bisher kaum etwas bekannt. Im Serum liegt Folsäure als Monoglutamat, überwiegend als 5-Methyl-THF-Monoglutamat, vor. Polyglutamate mit einer Kettenlänge von 3 oder höher können von Säugetierzellen nicht transportiert werden und tauchen daher auch nicht im menschlichen Serum auf (Shane 1995). Die Serum-Folate können in 3 Fraktionen eingeteilt werden:

- eine geringe Menge Folate, die an Transportproteine mit hoher Affinität gebunden sind,
- Folate, die locker an Transportproteine mit niedriger Affinität (überwiegend Albumin) gebundene sind, sowie
- freie Folate.

Etwa 50 % des gebundenen Proteins ist an Albumin gebunden (Zettner et al. 1978; Coassolo et al. 1980). Bei niedrigen Folatkonzentrationen im Serum steigt der Anteil an Folat, der an Transferrin und Albumin gebunden ist (Markanen et al. 1973). Der Folatanteil, der an Proteine mit hoher Affinität gebunden ist, steigt in der Schwangerschaft an (Ratnam und Freisheim 1990). Es handelt sich dabei um Transportproteine, die spezifisch Folate binden und eine höhere Affinität für PteGlu als für reduzierte Folatformen haben (Fernandes-Costa und Metz 1979).

Nach dem Erscheinen der Folate im Portalblut wird der größte Anteil innerhalb kürzester Zeit von der Leber aufgenommen, wo die Folate zu Polyglutamat-Derivaten metabolisiert werden und entweder gespeichert oder wieder in das Blut oder die Galle abgegeben werden.

### 3.2.3 Speicher und Körperverteilung

Endogene Folsäure kommt in fast allen Geweben im menschlichen Körper vor, überwiegend als Polyglutamate. Die intrazelluläre Umwandlung zu Polyglutamaten dient als Mechanismus zur Folatspeicherung, da diese die Zelle nicht verlassen können. Damit erhält das Enzym Polyglutamatsynthetase eine besondere Bedeutung für die Fähigkeit von Zellen, Folat zu speichern. Reife rote Blutzellen haben durch das Fehlen dieses Enzyms nur eine



geringfügige Kapazität zu Transport und Akkumulation von Folaten und sind daher auf die Speicher angewiesen, die während des Reifungsprozesses angelegt worden sind.

Die Fähigkeit der Gewebe, Folsäure zu akkumulieren und zu speichern, ist relativ begrenzt (Lowe et al. 1993, Shane 1995). Die Gesamtkörperspeicher des Menschen werden international unterschiedlich eingeschätzt. Während das IOM (1998) die Speicher auf etwa 22 mg (50 mmol) schätzt, wovon die Hälfte in der Leber gespeichert sein soll, gehen andere Schätzungen von nur 5-10 mg (11.3-22.6 mmol) aus (Bässler 1997, Shane 1995, Von der Porten et al. 1992). Die biologische Halbwertszeit dieser Speichermenge beträgt etwa 100 Tage (Bässler et al. 1997). Eine unzureichende Folatzufuhr führt also relativ schnell zu einem Folatmangel.

Etwa die Hälfte des zellulären Folates - in Abhängigkeit von der Art des Gewebes oder der Zellen - befindet sich in den Mitochondrien (Horne et al. 1989, Lin et al. 1993). Fast das gesamte zelluläre 5-Methyl-THF ist im Cytosol angesiedelt, während der größte Anteil an 10-Formyl-THF in den Mitochondrien zu finden ist (Shane 1995).

#### 3.2.4 Exkretion und enterohepatischer Kreislauf

Die Folatspeicher der Leber unterliegen einem raschen Umsatz. Die Hauptmenge der Folate im menschlichen Körper wird zu entsprechenden Abbauprodukten katabolisiert. Geringe Mengen Folate werden aber über Urin und Galle ausgeschieden und unterliegen einem sehr effektiven enterohepatischen Kreislauf. Eine Ausscheidung über den Urin erfolgt nach einer glomerulären Filtration und Reabsorption in der Niere durch einen aktiven Transport. Dabei wird der größte Teil des Folates wieder absorbiert und nur ein kleiner Teil an Folatderivaten ausgeschieden. Im Urin sind überwiegend Abbauprodukte des Folat-Stoffwechsels enthalten (Shane 1995).

Die durch die Galle ausgeschiedene Menge an Folat liegt schätzungsweise bei etwa 100 µg/d (0.226 mmol) und wird fast völlig im Dünndarm rückresorbiert (Herbert 1998; Shane 1995). Lediglich bei einer Malabsorption kann der Verlust auf diesem Weg bedeutsam sein (Shane 1995).

### 3.3 Funktionen

Die Hauptaufgabe der Folate im menschlichen Organismus ist die **Übertragung von 1-Kohlenstoffeinheiten**. Die wichtigsten Reaktionen von Folat-Coenzymen sind in Tab. 3.1 dargestellt.

Folsäure wird dafür durch Reduktion zu ihrer eigentlichen Coenzymform THF umgewandelt und dient als Überträger von Hydroxymethylgruppen und Formylgruppen. Die verschiedenen

C<sub>1</sub>-THF-Verbindungen unterscheiden sich in ihrer Oxidationsstufe und können mit Hilfe verschiedener Enzyme ineinander umgewandelt werden (Wagner 1995). Diese Umwandlung ist reversibel mit Ausnahme der 5,10-Methylen-THF zu 5-Methyl-THF. Eine Regeneration von THF aus dieser Coenzymform kann nur durch eine Methylierung von Homocystein erfolgen, an der Vitamin B<sub>12</sub> als Methylcobalamin beteiligt ist.

Die 1-Kohlenstoffeinheiten treten in Form von Formiat, Formaldehyd und Methanol an THF gebunden auf. In Form von Formiat werden sie vor allem für die Purinsynthese (C<sub>2</sub> und C<sub>8</sub> des Purinringes) benötigt, in Form von Formaldehyd für die Thymidinsynthese, in Form von Methanol für die Methioninsynthese (Chanarin 1990). Die Überführung von Serin in Glycin, an der THF beteiligt ist und eine 1-Kohlenstoffeinheit übernimmt, stellt die Hauptquelle des Organismus für den 1-Kohlenstoffeinheiten-Stoffwechsel dar.

Aufgrund ihrer entscheidenden Rolle im DNA-, RNA und Proteinstoffwechsel ist die Folatversorgung von grundlegender Bedeutung für ein adäquates Zellwachstum, eine normale Zellteilung sowie eine optimale Zelldifferenzierung.

**Tab. 3.1: Die wichtigsten Reaktionen der Folat-Coenzyme**

- 
- **Purinbiosynthese:** Übertragung von 1-Kohlenstoffeinheiten bei der **Synthese von 3 der 4 DNA-Basen**, Thymin, Guanin und Adenin (das C<sub>8</sub> und das C<sub>2</sub>-Atom des Purinkerns wird durch Formyl-THF bereitgestellt).
  - **Pyrimidinnukleotid-Biosynthese:** Methylierung von Desoxyuridylat zu Thymidylat bei der Zellteilung.
  - **Utilisation von Formiat**, das direkt an THF gebunden und damit dem Körper-Pool an 1-Kohlenstoffeinheiten zur Verfügung gestellt werden kann.
  - **Überführung verschiedener Aminosäuren** ineinander: Überführung von Serin und Glycin ineinander, Methylierung von Homocystein zu Methionin und die Umwandlung von Formiminoglutaminsäure zu Glutaminsäure beim Histidinabbau (Wagner 1995).
- 

### 3.4 Vorkommen

Im Gegensatz zu Vitamin B<sub>12</sub> kommen Folate sowohl in Lebensmitteln tierischen als auch pflanzlichen Ursprungs vor (Tab. 3.2). Besonders reich an Folaten sind Blattgemüse wie Spinat und Salat, außerdem Spargel, Tomaten sowie einige Kohl- und Obstsorten. Auch Getreide enthält Folate in nennenswerter Menge. Leber als Speicherorgan für Folate enthält die größten Folsäurekonzentrationen. Andere Fleischarten sowie Fisch und viele Obstsorten sind relativ arm an Folsäure.

**Tab. 3.2: Folsäure-Gehalte ausgewählter Lebensmittel in Folsäureäquivalenten** (nach Bundeslebensmittelschlüssel BLS II.2, BGVV 1994)

Lebensmittel	Gehalt (µg/100 g)	Lebensmittel	Gehalt (µg/100 g)
<b>Rindfleisch</b>		<b>Gemüse</b>	
Leber	242	Spinat	56
Steak, Kotelett, Filet	7	Weisskohl	36
<b>Kalbfleisch</b>		Salat	23
Leber	75	Tomaten	20
Muskelfleisch	6	<b>Obst</b>	
<b>Schweinefleisch</b>		Apfelsinen	31
Leber	104	Avocado	30
Muskelfleisch	4	Äpfel	4
<b>Geflügel</b>		<b>Milch / -produkte</b>	
Huhn	5	Weichkäse	42
<b>Fisch</b>		Quark	16
Hering	3	Vollmilch	4
Lachs	5	<b>Eier</b>	
Thunfisch	7	Hühnerei	59

Die natürlichen Folate liegen in Lebensmitteln meist als **Polyglutamate** vor, die sich hinsichtlich ihrer Bioverfügbarkeit stark unterscheiden (s. Kap. 3.6). Da Folsäure ein sehr empfindliches Vitamin ist, hängt der Folatgehalt der Lebensmittel auch vom Zubereitungsgrad ab. Viele Folate sind gegenüber Hitze, Sauerstoff, Licht und extremen pH-Werten empfindlich. Die **Verluste** können beim Kochen zwischen 50 und 90 % betragen (Herbert 1998). Die Zuverlässigkeit der Folatgehalte von Lebensmitteln in aktuellen Datenbanken ist derzeit sehr umstritten. Probleme bei älteren Bestimmungsmethoden führen dazu, daß die Folatgehalte stark unterschätzt wurden. Neuere Methoden haben z.T. bis zu zweifach höhere Werte ergeben (Tamura et al. 1997, IOM 1998). Das SCF geht davon aus, daß die Folatgehalte bisher um etwa 20-30 % unterschätzt wurden (SCF 1993). Außerdem wird bei vielen Datenbanken die sehr unterschiedliche Bioverfügbarkeit von Folaten durch die unterschiedlichen Anteile an Mono- und Polyglutamaten nicht berücksichtigt. Der deutsche Bundeslebensmittelschlüssel BLS (BGVV 1994) weist daher die Folsäuregehalte in Form von Gesamtfolsäure, freier Folsäure und Folsäureäquivalenten (freie Folatäquivalente = Monoglutamat + 0.2 × Polyglutamat) aus.

### 3.5 Bedarf und Empfehlungen in Schwangerschaft und Stillzeit

Der menschliche Organismus ist nicht in der Lage, Folsäure selbst zu synthetisieren und ist daher auf eine Aufnahme über die Nahrung angewiesen. Die meisten Studien und Untersuchungen zur Ermittlung des Folsäurebedarfs des Menschen wurden mit der synthetischen Form der Folsäure (PteGlu) durchgeführt und berücksichtigen daher nicht die sehr unterschiedliche Bioverfügbarkeit der Folsäure aus der Nahrung. Die sich daraus ergeben-

den Empfehlungen verschiedener Organisationen zur Folsäurezufuhr beruhen auf unterschiedlichen Einschätzungen und weichen teilweise voneinander ab (Tab. 3.3).

**Tab. 3.3: Zufuhrempfehlungen<sup>1</sup> (µg/d) von DGE, SCF, IOM und WHO/FAO ausgewählter Personengruppen**

Personengruppe	DGE	SCF			IOM/FNB		FAO/ WHO
		LTI	ADR	PRI	EAR	RDA	
Frauen ab 19 J	300	85	140	200 <sup>2</sup>	320	400	170
Schwangere	600	-	-	400	520	600	370-470
Stillende	450	-	-	350	450	500	270

<sup>1</sup> alle Angaben als Gesamtfolsäure (entspricht DFE = Dietary folate equivalents)

<sup>2</sup> Empfehlung für Frauen, die eine Schwangerschaft planen oder vermuten, schwanger zu sein = 400 µg/d

Die DGE (1991) geht von einer durchschnittlichen Bioverfügbarkeit der Nahrungsfolsäure von etwa 50 % aus. Alle Empfehlungen der DGE zur Folataufnahme werden grundsätzlich in Form von Empfehlungen für Gesamfolat (entspricht Nahrungsfolat) und für freie Folsäureäquivalente (entspricht PteGlu) angegeben, um der unterschiedlichen Bioverfügbarkeit aus Nahrung und Supplementen Rechnung zu tragen. Aufgrund von Schätzungen des Folsäurebedarfs auf etwa 50 µg PteGlu/d, die etwa 100 µg Gesamfolat entsprechen, wird für Erwachsene nach Hinzurechnen eines Sicherheitszuschlages die Empfehlung ausgesprochen, täglich 150 µg PteGlu oder 300 µg Gesamfolat aufzunehmen.

Wegen des erhöhten Bedarfs an Folsäure während der Schwangerschaft und um einen ausreichenden Sicherheitszuschlag zu gewährleisten, empfiehlt die DGE Schwangeren, die doppelte Menge Folsäure - also 600 µg/d Gesamfolat - aufzunehmen. Die Empfehlungen der DGE werden derzeit überarbeitet und sollen den neuen Empfehlungen des FNB/IOM angeglichen werden (Hages et al. 1999). Eine Veränderung der Empfehlungen für Schwangere ist nicht geplant.

Das SCF (1993) geht von einem täglichen Folsäurebedarf von etwa 70 µg aus und kommt für Erwachsene zu einem ADR von 140 µg Gesamfolat und zu einem PRI von 200 µg Gesamfolat pro Tag. Aufgrund von Studien (Hansen und Rybo 1967; Chanarin et al. 1968), die mit etwa 100 µg PteGlu zusätzlich zur Nahrung einen Abfall der Folatkonzentrationen im Erythrozyten verhindern konnten, empfiehlt das SCF für Schwangere eine Zufuhr von insgesamt 400 µg Gesamfolat pro Tag.

In den neuen Zufuhrempfehlungen des FNB/IOM für Folsäure von 1998 wird erstmals der unterschiedlichen Bioverfügbarkeit von synthetischer Folsäure und Nahrungsfolaten Rechnung getragen. Alle Empfehlungen werden in „Dietary Folate Equivalents“ (DFE) angegeben, die Gesamfolat entsprechen. Aufgrund einer Studie von O’Keefe et al. (1995) wird der tägliche Bedarf für Erwachsene (EAR) durch das IOM auf etwa 320 µg DFE geschätzt. Dies resultiert in einer Empfehlung (RDA = EAR × 1.2) von 400 µg DFE/d. Der Bedarf von Schwangeren wurde aufgrund von Studien festgelegt, die eine Aufrechterhaltung

des Folatstatus bei einer Zulage von 100 µg PteGlu (entspricht 200 µg DFE) pro Tag belegen (Caudill et al. 1997). Der Bedarf summiert sich demnach zu einer Zufuhr von 520 µg DFE/d (320 µg + 200 µg). Für die RDA ergibt sich eine Zufuhr von 600 µg DFE/d.

Die FAO/WHO empfiehlt für erwachsene Frauen eine tägliche Zufuhr in Höhe von 170 µg/d, während der Schwangerschaft eine tägliche Zufuhr in Höhe von 370-470 µg/d, die über Nahrungsfolate und zusätzliche Folsäuresupplemente in Höhe von 200-300 µg/d erreicht werden sollten (FAO/WHO 1988).

### 3.6 Bioverfügbarkeit und ihre Einflußgrößen

Die Bioverfügbarkeit von Folaten schwankt zwischen fast 100 % bei synthetischer Folsäure (Gregory 1997) und etwa 50 % bei natürlichen Nahrungsfolaten und wird in erster Linie von dem Verhältnis von Mono- zu Polyglutamaten beeinflusst. Aufgrund der Daten des BLS wird dieses Verhältnis auf etwa 40 : 60 (Mono : Poly) geschätzt (DGE 1991).

Eine nahezu vollständige Bioverfügbarkeit wird auch bei synthetischer Folsäure nur erreicht, wenn diese in Form von Supplementen nüchtern verabreicht werden. Die Bioverfügbarkeit von Folsäure aus angereicherten Cerealien wird sehr unterschiedlich beurteilt. Colman (1982) geht von einer Bioverfügbarkeit von 33-60 % aus, während Pfeiffer et al. (1997) diese auf 85-100 % schätzen. Das IOM/FNB (1998) geht von einer durchschnittlichen Verfügbarkeit von synthetischer Folsäure, die zusammen mit anderen Lebensmitteln oder im Rahmen einer Mahlzeit zugeführt wird, von etwa 85 % aus. Diese unterschiedliche Bewertung und die damit verbundene mögliche Unterschätzung der tatsächlichen Bioverfügbarkeit von synthetischer Folsäure kann dazu führen, daß der Folsäurebedarf des Menschen bisher ebenfalls unterschätzt wurde (IOM 1998).

Aufgrund mangelhafter Kenntnisse über die Biochemie und Physiologie der Folatabsorption, sind viele Dinge über die Bioverfügbarkeit der Nahrungsfolate und Interaktionen mit anderen Nährstoffen bis heute nicht bekannt. Faktoren, die die Bioverfügbarkeit von Folaten beeinflussen können, sind in Tab. 3.4 dargestellt.

Unterschiede in der relativen Bioverfügbarkeit der einzelnen Folatderivate sind bisher nicht hinreichend geklärt. Tamura und Stoksted (1973) berichten beim Menschen von unterschiedlichen Bioverfügbarkeiten für Folsäure (100 %), THF (104,7 %), 5-Methyl-THF (120,8 %) und 5-Formyl-THF (70 %). Bhandari und Gregori (1992) stellten dagegen bei Ratten gleiche Bioverfügbarkeit für 5-Methyl-THF und 5-Formyl-THF fest.

Die Kettenlänge der Folate hat einen Einfluß auf deren Bioverfügbarkeit. So werden Monoglutamate fast quantitativ, Polyglutamate dagegen zu einem sehr viel geringeren Prozentsatz resorbiert. Es wird mit einer Verfügbarkeit von durchschnittlich 20 % gerechnet

(DGE 1991). Bis zu welcher Kettenlänge Polyglutamate überhaupt verfügbar sind, ist bisher ebenfalls nicht hinreichend geklärt (Pfeiffer et al. 1994).

**Tab. 3.4: Mögliche Faktoren, die die Bioverfügbarkeit von Folaten beeinflussen können** (nach Pfeiffer et al. 1994; IOM 1998)

---

**Extrinsische und intrinsische Faktoren**

---

- Form der Folate (Reduktionsstufe, Derivate, Länge der Polyglutamatkette)
  - Aktivität der nativen Dekonjugase im Lebensmittel
  - Anwesenheit von Folatbindungsproteinen
  - Lebensmittelinhaltsstoffe wie Ballaststoffe
  - Vorliegen möglicher Dekonjugaseinhibitoren
  - physiologische Konstitution (genetische Faktoren, Alter, Krankheit)
  - Aktivität der intestinalen Dekonjugase
  - pH-Wert im Darm
  - Alkoholabusus
  - Rauchen
  - Einnahme oraler Kontrazeptiva
  - Einnahme von Medikamenten mit Einfluß auf Folatmetabolismus (entzündungshemmende Mittel, Antikonvulsiva, Antiepileptika, andere Folsäureantagonisten wie Methotrexat)
- 

Die Aktivität der nativen Dekonjugase in den Lebensmitteln spielt ebenfalls eine Rolle bei der Bioverfügbarkeit von Folaten, da durch sie Polyglutamate bereits während der Lagerung von Lebensmitteln hydrolysiert und zu Monoglutamaten zerlegt werden können (Pfeiffer et al. 1994). Bei der Be- und Verarbeitung von Lebensmitteln kann diese Dekonjugase zerstört werden. So wurde in rohem Weisskohl eine vollständige Spaltung der Poly- zu Monoglutamaten und eine fast vollständige Bioverfügbarkeit festgestellt; dagegen war die Bioverfügbarkeit in gekochtem Weisskohl um 60 % verringert (Ristow et al. 1982). Von ähnlichen Ergebnissen berichten Abad und Gregory (1987) und Gee et al. (1989).

Der Einfluß von Ballaststoffen auf die Bioverfügbarkeit von Folaten ist bisher nicht ganz geklärt. Trotz einzelner Berichte von negativen Einflüssen einzelner Ballaststoffe (Keagy 1985, Keagy et al. 1988; Bailey 1988), wird derzeit davon ausgegangen, daß die Anwesenheit von Ballaststoffen per se die Verfügbarkeit nicht reduziert (Bailey 1988; Gregory 1989, IOM 1998).

Obwohl eine Reihe von älteren Studien bei Einnahme oraler Kontrazeptiva einen negativen Einfluß auf den Folatstatus festgestellt hat (Shojania et al. 1968; Shojania et al. 1971; Smith et al. 1975; Grace et al. 1982), konnte bisher weder in einer groß angelegten epidemiologischen Studie (Senti und Pilch 1984) noch in anderen Studien (Rhode et al. 1983; IOM 1998) ein solcher Einfluß festgestellt werden.

### 3.7 Folsäuremangel

Die Entstehung eines Folsäuremangels kann verschiedene Ursachen haben (nach Herbert 1998; Bässler 1997):

- ungenügende Folatzufuhr (Mangelernährung, Zubereitungs- und Lagerverluste)
- mangelhafte Verdauung, Absorption oder Utilisation (Malabsorptionssyndrom bei Zöliakie, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa),
- erhöhter Bedarf (z.B. Wachstum, Schwangerschaft),
- erhöhte Ausscheidung (z.B. Hämodialyse),
- Interferenzen mit Pharmaka (z.B. Folatanaloga).

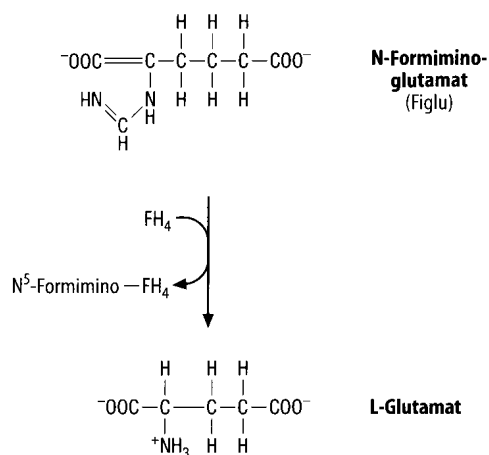
Die Folatspeicher des menschlichen Körpers sind begrenzt. Der Folatvorrat der Leber reicht zur Aufrechterhaltung normaler Folatspiegel im Serum etwa 3-4 Wochen aus. Der Übergang von einer normalen Folsäure-Bilanz bis hin zum manifesten Folsäuremangel läßt sich nach Herbert (1998) in 4 Stadien unterteilen: Im ersten Stadium, einem Stadium der frühen negativen Nährstoffbilanz, sinkt lediglich die Folatkonzentration im Serum ab. Die Körperfolatspeicher sind noch nicht merklich beeinflusst. Das zweite Stadium, das innerhalb von etwa 10-12 Wochen erreicht wird (Bässler 1997), ist charakterisiert durch niedrige Folatkonzentration im Serum und eine Übersegmentierung der neutrophilen Granulozyten.

Im dritten Stadium nach etwa 18 Wochen ist bereits ein biochemischer Mangel an Folsäure mit einer mangelhaften Erythropoese und anderen Funktionsstörungen sowie erhöhte Homocysteinkonzentrationen, erkennbar. Die Folatkonzentrationen im Erythrozyten fallen stetig ab. Im vierten und letzten Stadium kann dann von einem klinisch manifesten Folsäuremangel gesprochen werden, in dem eine Anämie und ein erhöhtes mittleres zelluläres Volumen (MCV) der Blutzellen vorliegen. Ein manifester Mangel mit einer megaloblastischen Anämie tritt nach etwa 4-5 Monaten auf (Bässler 1997).

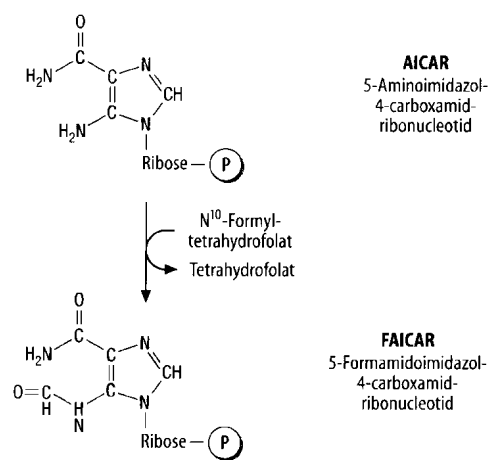
Folatmangel führt beim Menschen zu einer spezifischen Art der Anämie, der **megaloblastischen Anämie**. Megaloblasten sind übergroße Vorstufen der Erythrozyten, die im Folatmangel aufgrund einer gestörten Zellteilung akkumulieren. Durch die enge Verknüpfung des Folat- und Vitamin-B<sub>12</sub>-Stoffwechsels kann die Ursache der Anämie nicht nur auf einen primären Folatmangel, sondern auch auf einen durch Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel verursachten sekundären Folatmangel zurückgeführt werden. Die Anämie, ein Mangel an Erythrozyten, ist nur eine Manifestation der reduzierten Zellteilung. Auch andere Zellen und Gewebe sind vom Folatmangel betroffen. Ursache für die reduzierte Zellteilung ist die Rolle der Folsäure in der Nukleinsäure-Synthese (s. Kap. 3.3).

Eine weitere Folge eines Folatmangels ist die **Akkumulation von Metaboliten** des Folsäurestoffwechsels im Organismus. Biochemische Reaktionen, die zur Bereitstellung von

1-Kohlenstoffeinheiten dienen, sind durch einen Folatmangel betroffen. Die Substrate, auf die diese 1-Kohlenstoffeinheiten übertragen werden sollen, reichern sich im Organismus an und werden teilweise ausgeschieden. Formiminoglutamat (**FIGLU**), ein Produkt des Histidinabbaues, wird im Folatmangel vermehrt über den Urin ausgeschieden und daher als Indikator für den Folatstatus benutzt (Abb. 3.4). Es sind keine toxischen Wirkungen einer Akkumulation von FIGLU bekannt (Wagner 1995). Ein weiterer Metabolit, der im Folatmangel vermehrt auftritt, ist 5-Aminoimidazol-4-Carboxamid-Ribonucleotid (AICAR), ein Ribonucleotid der Purinbiosynthese (Abb. 3.5). Es sind keine toxischen Effekte von hohen AICAR-Konzentrationen bekannt (Wagner 1995).



**Abb. 3.4: Folatabhängige Reaktion von Formiminoglutamat (FIGLU)**



**Abb. 3.5: Folatabhängige Reaktion von 5-Aminoimidazol-4-carboxamid-ribonucleotid (AICAR)**

Im Folatmangel kann Homocystein nicht zu Methionin methyliert werden und reichert sich im Organismus an. Homocystein kann durch eine oxidative Verknüpfung mit einem weiteren Homocystein-Molekül zu Homocystin überführt werden. Die pathologische Akkumulation des Disulfids Homocystin im Blut (Hyperhomocystinämie) und in Geweben verursacht Endothelschädigungen, die zu Gefäßverschlüssen führen und die Entstehung koronarer Herzkreislauferkrankungen begünstigen können (Clarke et al. 1991, Ubbink et al. 1996, Herzlich et al. 1996, Blundl et al. 1996, Rosenberg 1996, Malinow 1996, Refsum et al. 1996, Selhub et al. 1996, Tonstad et al. 1997). Bei Schwangeren wurde eine Hyperhomocysteinämie ebenfalls im Zusammenhang mit vorzeitiger Plazentalösung (Abruptio placentae) und Plazentainfarkt festgestellt (Goddijn-Wessel et al. 1996).

Im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel ist die Methylierung von Homocystein zu Methionin ebenfalls eingeschränkt (Abb. 3.6). Dadurch entfällt die Feed-Back-Kontrolle für die 5-Methyl-THF Bildung. Verschiedene Folsäurederivate häufen sich wie in einer Falle als 5-Methyl-THF an, welches nur durch die Methylierungsreaktion von Homocystein zu Methionin erneut zu THF



regeneriert und dem Organismus wieder zur Verfügung gestellt werden kann. Es kommt zu einem funktionellen Folsäuremangel, der auch als Methylfolat-Falle bekannt ist.

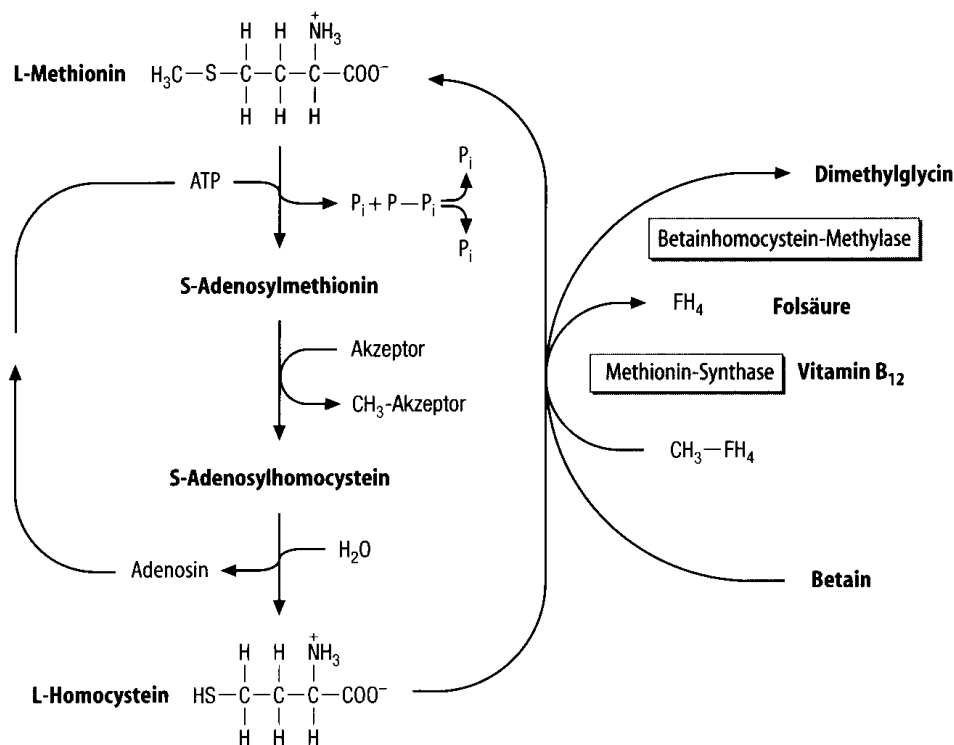


Abb. 3.6: Folat- und Vitamin-B<sub>12</sub>-abhängige Reaktion von Homocystein

Eine defekte Methylierung, wie sie im Folatmangel auftritt, wird ebenfalls mit Fehlern in der Regulation der Genexpression diskutiert. Die Methylierung der DNA ist in eukaryotischen Zellen für die Aktivierung bzw. Deaktivierung von Genen verantwortlich (Strobl 1990, Holliday et al. 1993). Der Umfang der Methylierung der spezifischen Gene variiert während der Entwicklung von Gewebe zu Gewebe und führt zu spezifischen Methylierungsmustern. Dabei sind inaktive Gene meist stärker methyliert als aktive (Strobl 1990). Bei Ratten, denen eine methylgruppenarme Diät verabreicht wurde, konnte ein häufigeres Auftreten von spontanem Leberkrebs festgestellt werden als in einer Kontrollgruppe (Mikol et al. 1983). In einer anderen Untersuchung wurde bei einem Mangel an Methylgruppen in der Ernährung eine mangelhafte Methylierung der DNA beobachtet (Wainfan et al. 1989).

## 4 Schwangerschaft und Vegetarismus

### 4.1 Vitamin-B<sub>12</sub>-Stoffwechsel in der Schwangerschaft

Über die Veränderungen des Vitamin-B<sub>12</sub>-Stoffwechsels während der Schwangerschaft ist relativ wenig bekannt. Viele Daten, die zu diesem Thema veröffentlicht wurden, sind vor der Verfügbarkeit von Bestimmungsmethoden, die zwischen für den Menschen biologisch aktiven und nicht aktivem Vitamin B<sub>12</sub> unterscheiden können, erarbeitet worden. Dies war erst mit dem Einsatz von menschlichem IF bei der Messung möglich und zeigte, daß die Plasmakonzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> mit den alten Methoden um bis zu 100 % überschätzt wurden (Allen 1994, Kolhouse et al. 1978).

Bei schwangeren Mäusen wurde ein Anstieg in der Anzahl der **IF-Cbl-Rezeptoren** und der Bindungsrate von Vitamin B<sub>12</sub> an die ileale Mucosa festgestellt (Robertson und Gallagher 1983). Die Anzahl dieser Rezeptoren ist normalerweise der limitierende Faktor, der die Absorptionsrate von Vitamin B<sub>12</sub> bestimmt. Eine erhöhte Anzahl an Rezeptoren erklärt die bessere Absorption von oral zugeführtem Vitamin B<sub>12</sub>, wie sie bei schwangeren Frauen (Hellegers et al. 1957) und trächtigen Mäusen (Brown et al. 1977) beobachtet wurde. Bei Mäusen scheint die größere Anzahl an Rezeptoren durch plazentales Lactogen reguliert zu werden, welches in der Lage ist, die Erneuerung von existierenden Rezeptoren und die Neusynthese anzuregen (Robertson und Gallagher 1983).

Es bestehen beträchtliche Diskrepanzen in verschiedenen Studien, wie sich die **Serumkonzentrationen von Vitamin B<sub>12</sub> und den verschiedenen Transcobalaminen** während der Schwangerschaft verändern. Einer der Gründe dafür ist das Fehlen von longitudinal angelegten Untersuchungen, in denen schwangere Frauen durch die gesamte Schwangerschaft hindurch beobachtet wurden. Allgemeine Übereinkunft besteht inzwischen darin, daß die Plasma- bzw. Serumkonzentrationen von Vitamin B<sub>12</sub> während der Schwangerschaft kontinuierlich fallen. Der Abfall beginnt bereits im ersten Trimenon (Fernandez-Costa und Metz 1982). In einer longitudinal angelegten Untersuchung von 23 niederländischen, schwangeren Frauen, die mit 65 nicht schwangeren Frauen verglichen wurden, sanken die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen bereits gegen Ende des ersten Trimenons signifikant ab. Dieser Abfall konnte nicht durch die zu dieser Zeit erst moderat einsetzende Hämodilution erklärt werden (Bartels et al. 1989). Ein weiterer Abfall der Konzentrationen auf ungefähr 50 % des Niveaus von nicht schwangeren Frauen wurde bis zum 7. Schwangerschaftsmonat beobachtet.

Obwohl die Gesamt-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen kontinuierlich fallen, konnte ein Anstieg der Transcobalamine TC I und TC III während des 2. und 3. Trimenons festgestellt werden. TC II dagegen scheint lediglich im 3. Trimenon stark anzusteigen und erreicht Konzen-

trationen, die um bis zu  $\frac{1}{3}$  höher liegen als die nicht schwangerer Frauen (Fernandez-Costa und Metz 1982). Durch den Anstieg der verschiedenen Transcobalamine und den Abfall der Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen steigt die TBBC des mütterlichen Serums beträchtlich während des 3. Trimenons (Fernandez-Costa und Metz 1982).

An einem Kollektiv von 51 schwangeren Frauen wurden die Ergebnisse von mütterlichen Blutproben 3 Stunden post partum mit dem Nabelschnurblut und dem Blut aus der Nabelschnurvene der Plazenta verglichen. Diese Untersuchung bestätigte die Vermutung, daß Neugeborene über höhere Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum ( $\bar{x} \pm \text{SE}$ :  $588 \pm 175$  pmol/L) als ihre Mütter ( $251 \pm 108$  pmol/L) aufweisen. Die Plazentakonzentrationen lagen mit  $792 \pm 449$  pmol/L noch höher (Giugliani et al. 1985). Die Plazenta scheint in der Lage zu sein, Vitamin B<sub>12</sub> anzureichern und einen Übergang in den fetalen Kreislauf entgegen einem Konzentrationsgradienten zu ermöglichen. Fetale und mütterliche Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum korrelieren stark miteinander (Fréry et al. 1992), ebenso die Konzentrationen von mütterlichem Serum und Fruchtwasser ( $r = 0.89$ , Economides et al. 1992). TC-II-Rezeptoren konnten an der Oberfläche der menschlichen **Plazenta** identifiziert werden (Friedman et al. 1977, Seligman und Allen 1978). Dieser Rezeptor verfügt über eine Bindungsstelle für TC II, die eine zweifach höhere Affinität für holo-TC II hat als für apo-TC II. Die Rezeptoren sind nicht mit Vitamin B<sub>12</sub> gesättigt und binden vorzugsweise holo-TC II. Das Vitamin kann so in die Plazenta aufgenommen werden und die Rezeptoren wieder freigeben. Die Vitamin-B<sub>12</sub>-Aufnahme der Plazenta steigt mit dem Fortschreiten der Schwangerschaft an. Die Aktivität des Rezeptors scheint durch plazentale Hormone reguliert zu werden (Robertson und Gallagher 1983, Seetharam et al. 1991). Dabei scheint nur TC II in der Lage zu sein, eine ausreichende Versorgung des Feten zu gewährleisten. Dies zeigten Untersuchungen mit den Transcobalaminen TC I, II und III, die aus menschlichem Serum isoliert, mit radioaktivem <sup>57</sup>Co-Vitamin-B<sub>12</sub> abgesättigt und schwangeren Hasen injiziert wurden. Nach Injektion von TC-II-gebundenem Vitamin B<sub>12</sub> konnten etwa 62 % der Radioaktivität kurze Zeit später im Fetus gemessen werden; dagegen war die Aufnahme des Fetus nach Injektion von TC-I- und TC-III-gebundenem Vitamin B<sub>12</sub> gering (Fernandez-Costa und Metz 1979). Die Rolle der erhöhten Konzentrationen an TC I und III im mütterlichen Blut während der Schwangerschaft ist bisher noch nicht bekannt.

Während intravenös verabreichtes Vitamin B<sub>12</sub> bei schwangeren Mäusen und Ratten innerhalb von Minuten in der Plazenta meßbar ist, vergehen bis zu mehreren Stunden, in denen Vitamin B<sub>12</sub> langsam den fetalen Kreislauf erreicht (Graber et al. 1971). Ebenso verzögert ist der Transport beim menschlichen Fetus. Eine oral verabreichte Dosis von <sup>58</sup>Co-Vitamin-B<sub>12</sub> benötigt etwa 24 h, bis nennenswerte Mengen von der Mutter zum Fetus gelangt

sind; etwa 21 d vergehen bis zum Erreichen der maximalen Transfer-Rate (Luhby et al. 1958, 1961). Das TC II, das vornehmlich für den Transport von Vitamin B<sub>12</sub> von der Plazenta zum Fetus verantwortlich ist, ist vermutlich nicht nur mütterlichen Ursprungs. Diese Vermutung geht auf die Beobachtung zurück, daß sich die Transcobalamine in Fruchtwasser und mütterlichem Blut zu unterschiedlichen Anteilen bilden (Grossowicz et al. 1983). Außerdem weist ein genetischer Polymorphismus in der späteren Schwangerschaft darauf hin, daß der Fetus eigenes TC II produziert (Porck et al. 1983, Hansen et al. 1989). Bei einem TC-II-Mangel, der durch eine angeborene Stoffwechselstörung verursacht wird, überlebt der Fetus, obwohl er bei der Geburt nur über sehr niedrige Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher verfügt (Hitzig et al. 1974).

Bei der Entbindung sind die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen in der Nabelschnur doppelt so hoch wie im mütterlichen Blut, während die UBBC, die TBBC und alle 3 Transcobalamine niedriger sind (Fernandez-Costa und Metz 1982, Bloomfield et al. 1973). Infolgedessen sind die fetalen Transcobalamine stärker mit Vitamin B<sub>12</sub> abgesättigt. Dies bestätigt die Vermutung, daß relativ viel Vitamin B<sub>12</sub> im fetalen Plasma verbleibt und relativ wenig Vitamin B<sub>12</sub> in die Speicher eingelagert wird. Es gibt einige Hinweise aus älteren Studien, daß TC II in fetalem Serum weniger effizient bei der Versorgung der fetalen Zellen mit Cobalamin ist, als dies bei Erwachsenen der Fall ist (Kumento 1969). Zudem sind die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen in der fetalen Leber und anderen Organen geringer als beim Erwachsenen (Rapazzo et al. 1970).

Insgesamt werden im Verständnis des Vitamin-B<sub>12</sub>-Stoffwechsels in der Schwangerschaft viele Lücken deutlich. Es wird mehr Information benötigt über die Rolle der verschiedenen Transcobalamine während der Schwangerschaft sowie über ihre Bedeutung für den plazentalen Transport und ihren Einfluß auf die intestinale Absorption von Vitamin B<sub>12</sub>. Es werden Kenntnisse über die Wichtigkeit der mütterlichen Speicher und die Höhe der Vitamin-B<sub>12</sub>-Aufnahme mit der Nahrung für die Speicherung von Vitamin B<sub>12</sub> im Fetus benötigt.

Bei adäquater Versorgung weist ein Säugling bei seiner Geburt einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Gehalt von etwa 25-50 µg auf (Allen 1994). Diese Speicher sollten theoretisch bis zum Ende des ersten Lebensjahres ausreichen, auch dann, wenn die Muttermilch nur geringe Konzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> aufweist. Trotzdem kommt ein **Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel** häufiger **bei Säuglingen** von Müttern mit relativ niedriger Vitamin-B<sub>12</sub>-Aufnahme vor. Dies weist darauf hin, daß die fetalen Speicher maßgeblich durch die mütterliche Vitamin-B<sub>12</sub>-Aufnahme oder den mütterlichen Vitamin-B<sub>12</sub>-Status während der Schwangerschaft beeinflusst werden. Es sind verschiedene Situationen bekannt, in denen Säuglinge früh einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel entwickeln. Berichte aus Indien zeigen, daß Säuglinge von Müttern, die über einen

längeren Zeitraum eine vegane Ernährung praktiziert haben oder einen sehr niedrigen Verzehr an Lebensmitteln tierischen Ursprungs aufweisen, innerhalb der ersten 4 - 8 Lebensmonate Mangelsymptome wie Anämie, vermindertes Wachstum und neurologische Schäden entwickeln können (Jadhav et al. 1962, Srikantia und Reddy 1967). Auch ein charakteristischer Tremor sowie exzessive Hautpigmentation wurden beschrieben (Garewal et al. 1988). In einer Gruppe indischer Immigranten, die eine überwiegend vegane Ernährung praktizieren, wurden bei etwa 13 % der Neugeborenen innerhalb der ersten 10 Lebensstage Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum festgestellt, die unter den Normalwerten lagen (Roberts et al. 1973).

Bei Säuglingen, die unter einem infantilen Tremorsyndrom litten, wurden die Transcobalamin-Konzentrationen untersucht. Die Blutkonzentrationen wiesen dabei keinerlei statistisch signifikante Unterschiede zu einer ausreichend versorgten Kontrollgruppe auf. In der cerebralen Spinalflüssigkeit waren die Konzentrationen an TC II und TC III sowie Gesamt-Vitamin-B<sub>12</sub> jedoch weniger als halb so hoch wie in der Kontrollgruppe (Garewal et al. 1988). In einem späteren Mangelstadium - meistens, bevor Anzeichen für eine Anämie auftreten - manifestieren sich neurologische Schäden wie eine Demyelisation des Spinalkanals, eine Paresthesie, mangelhafte geistige Entwicklung, Verwirrungszustände, Gedächtnisschwund und sensorische Defizite. Ab einer bestimmten Stufe können die Einschränkungen der mentalen Funktionen dauerhaft sein (Kaul et al. 1972). In den meisten Fällen können die Symptome jedoch durch eine parenterale Zufuhr von Vitamin B<sub>12</sub> bei der stillenden Mutter oder eine intramuskuläre Injektion beim Säugling wieder vollständig beseitigt werden (Srikantia und Reddy 1967).

In den USA wurden bei Frauen, die eine vegane Ernährung über einen relativ kurzen Zeitraum praktiziert haben, niedrige Konzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> in Serum und Muttermilch festgestellt, die stark miteinander korrelierten (Specker et al. 1990). Niedrige Konzentrationen in der Muttermilch traten auf, wenn die streng vegane Ernährung länger als 30 Monate praktiziert wurde. Dieser relativ kurze Zeitraum steht der Aussage entgegen, daß Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher über einen Zeitraum von etwa 10-20 Jahren reichen sollen und lassen vermuten, daß möglicherweise auch die laufende Aufnahme an Vitamin B<sub>12</sub> einen Einfluß auf die Sekretion des Vitamins in die Muttermilch hat. Diese Beobachtung konnte in einer Studie mit Vitamin-B<sub>12</sub>-Supplementen bestätigt werden (Sneed et al. 1981). Ebenso scheinen aber auch die mütterlichen Speicher die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen in der Milch zu beeinflussen, da sie auch mit der Dauer der veganen Ernährungsform korrelierten.

Der Anteil an Vitamin B<sub>12</sub>, der vom Fetus während der Schwangerschaft gespeichert wird, ist eine der wichtigsten Bestimmungsgrößen für den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status während des Säuglingsalters. Mangelsymptome während des ersten Lebensjahres treten aber nur auf,

wenn zu den niedrigen Speichern eine Ernährung mit einer Vitamin-B<sub>12</sub>-armen Muttermilch kommt (Sadowitz et al. 1986).

## 4.2 Folsäure-Stoffwechsel in der Schwangerschaft

Durch seine wichtige Rolle bei der Zellteilung ist die Folsäure auch in der Schwangerschaft von sehr großer Bedeutung. Bereits 1931 wurde eine Form der megaloblastischen Anämie in der Schwangerschaft beschrieben, die auf Folatgaben ansprach (Wills 1931). Die beschleunigte Zellteilung aufgrund des Uteruswachstums, der Entwicklung der Plazenta und des Fetus sowie der Vermehrung des Blutvolumens führt zu einer größeren Anzahl von 1-Kohlenstoff-Transporten im Organismus der Mutter. Daraus resultiert ein erhöhter Bedarf an Folsäure während der Schwangerschaft. Ein Folatmangel während der Schwangerschaft wird mit einem niedrigeren Geburtsgewicht des Kindes, Aborten, vorzeitiger Plazentalösung und Frühgeburten in Verbindung gebracht (Hibbard et al. 1965, Martin et al. 1965, Chanarin 1990, Pietrzik et al. 1992).

Während der Schwangerschaft steigt der Folatbedarf stark an. Ursache hierfür ist nicht nur das starke Wachstum von Plazenta und Fetus und die damit verbundene Zellteilung, sondern auch ein verstärkter Folatkatabolismus während der Schwangerschaft (Scott et al. 1993). Verschiedene Metaboliten des Folatabbaus wurden im Schwangerschaftsverlauf vermehrt ausgeschieden (Murphy et al. 1976, Krumdieck et al. 1978, Scott et al. 1989). Es wird vermutet, daß dies mit dem während der DNA-Synthese am häufigsten benötigten, aber sehr instabilen Dihydrofolat (DHF) zusammenhängt. Es gibt Hinweise darauf, daß dieses empfindliche Folatderivat anstelle einer Regeneration vermehrt abgebaut wird (Pfeiffer et al. 1994). Dabei entstehen p-Aminobenzoylglutamatreste (p-ABG), die in der Schwangerschaft in erhöhten Konzentrationen ausgeschieden werden (Scott et al. 1993).

Es gibt ebenfalls Hinweise auf eine veränderte renale Funktion während der Schwangerschaft. Normalerweise werden wasserlösliche Vitamine sehr effektiv im renalen Tubulus reabsorbiert. Landon und Hytten (1971) berichten von einer stark erhöhten Folatausscheidung im 24-h-Urin, die etwa viermal so hoch war wie die Folatausscheidung 6 Wochen nach der Entbindung. Trotz einer um 60 % gesteigerten glomerulären Filtrationsrate stellten Landon und Hytten einen starken Abfall der Folatkonzentrationen im Serum fest. Sie schlossen daraus, daß die erhöhte Folatausscheidung ein Ergebnis einer veränderten renalen Funktion sein muss. Die erhöhten Verluste von Folat durch die Urinausscheidung können eine Ursache für eine Abnahme der nicht-proteingebundenen Folatfraktion und des Gesamtfolats sein; niedrige Serum-Folatspiegel sollten ohne gleichzeitige Anzeichen einer Folatdepletion in den Geweben daher nicht als Mangel gewertet werden (Fleming 1972).

Der mütterliche Folatstatus wird auch durch die Steigerung des Plasmavolumens beeinflusst, die zwischen 25 und 80 % liegt. Die Hämodilution beginnt gegen Ende des ersten Trimenons, erreicht ihr Maximum etwa in der 25. Schwangerschaftswoche und bleibt dann relativ konstant bis zur 34. Schwangerschaftswoche (Bartels et al. 1989). Das Absinken der Konzentrationen von Folat im Blut kann bei einer guten Versorgung mit Folat vollständig durch die Erhöhung des Plasmavolumens erklärt werden (Hall et al. 1976).

Obwohl bei schwangeren Frauen häufig erniedrigte Folatspiegel im Blut und Erythrozyten beobachtet werden (Bruinse et al. 1995, Chanarin 1990), verfügen die meisten Neugeborenen über normale Folatspiegel (Giugliani et al. 1985, Smith et al. 1985). Dies scheint auf einen äußerst effizienten Mechanismus hinzuweisen, der die Versorgung des Fetus auf Kosten der mütterlichen Versorgung sicherstellt (Pietrzik und Thorand 1997). Besonders in den ersten Wochen der Schwangerschaft, in denen die Entwicklung der Plazenta noch nicht vollständig abgeschlossen ist, kann ein Folatmangel schwere Folgen für die Entwicklung des Fetus haben.

Die Zusammenhänge zwischen Folatmangel und Entwicklungsstörungen beim Fetus sind bis heute nicht vollständig geklärt. Es gibt aber Hinweise auf veränderte Enzymaktivitäten während der fetalen Entwicklung (Christensen und Rosenblatt 1995). Scheinbar ist der Homocysteinkatabolismus durch die Cystathioninase in Leber und Gehirn zugunsten einer Remethylierung von Homocystein zu Methionin reduziert (Bourbon 1976). Dies weist auf einen erhöhten Bedarf an Methyl-THF und eine erhöhte Sensitivität des Fetus gegenüber Homocystein hin.

### **4.3 Ätiologie von Neuralrohrdefekten**

Sowohl ein Folsäure- als auch ein Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel werden als Risikofaktoren für das Auftreten von Neuralrohrdefekten angesehen (Kirke et al. 1993). Eine Hyperhomocysteinämie, die sowohl durch einen Folsäure- als auch einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel ausgelöst werden kann, gilt ebenfalls als unabhängiger Risikofaktor (Ubbink 1995, Steegers-Theunissen 1994). Über einen Zusammenhang zwischen Folatstatus und Neuralrohrdefekten wurde erstmals 1965 von Hibbard und Smithells berichtet. Die Entstehung von Neuralrohrdefekten ist ein komplexes Geschehen, in dem viele Faktoren eine Rolle spielen; eine Untersuchung von Heid et al. (1992) zeigt, daß mit einem Folsäuremangel alleine bei Mäusen keine Neuralrohrdefekte erzeugt werden können.

Die vollständige Ätiologie von Neuralrohrdefekten konnte bis heute nicht aufgeklärt werden. Als Ursache für den unvollständigen Neuralrohrschluß wird u.a. eine Störung bei der Synthese von Methionin aus Homocystein diskutiert (Steen et al. 1998). Ist die enzymatische

Funktion des katalysierenden Enzyms Homocystein-Methyl-Transferase in den ersten 4 Wochen der Embryogenese gestört, kommt es aufgrund mangelnder alternativer Stoffwechselwege zu einem Anstieg von Betain im embryonalen Blut, welches nach Ergebnissen von in vitro Studien auch bei einer moderaten Konzentrationserhöhung toxisch wirken kann (Pietrzik und Bronstrup 1997, van Aerts et al. 1994). Eine weitere Hypothese geht davon aus, daß eine relative Methionindepletion aufgrund einer gestörten Umwandlung von Homocystein zu Methionin für die Entstehung von Neuralrohrdefekten verantwortlich ist und in der Folge ein Mangel an S-Adenosylmethionin entsteht. Dieser Metabolit ist u.a. an verschiedenen Methylierungsreaktionen der DNA, Lipiden, Sphingolipiden und anderen Molekülen beteiligt (Steen et al. 1998). Die Hypothese der besonderen Bedeutung von Methionin für die fetale Entwicklung in den ersten Wochen wird durch die Beobachtung gestützt, daß Methionin im Zölon, der sekundären embryonalen Leibeshöhle, und im Fruchtwasser in besonders hohen Konzentrationen gemessen wurde (Steeegers-Theunissen et al. 1995).

Eine Reihe von Beobachtungs- und Interventionsstudien belegt eindeutig einen prophylaktischen Wert einer perikonzeptionellen Folsäuregabe (Tab. 4.1). Dies weist darauf hin, daß ein metabolischer Defekt zumindest teilweise korrigiert werden kann. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wird davon ausgegangen, daß eine perikonzeptionelle Folsäuregabe in einer Dosierung von 0.4 - 4.0 mg/d die Inzidenz von Neuralrohrdefekten um 50 - 80 % senken kann (O'Connor 1994). Das höchste Risiko für das Auftreten von Neuralrohrdefekten liegt bei Müttern, die bereits in einer vorhergehenden Schwangerschaft ein neuralrohrdefekt-belastetes Kind geboren haben (5 - 10 %; = recurrence); trotzdem werden 95 % aller Kinder mit einem Neuralrohrdefekt in Familien geboren, in denen bisher kein Neuralrohrdefekt aufgetreten ist. Hier liegt das Risiko etwa bei 0.01 - 0.04 % (= occurrence) (O'Connor 1994, Rieder 1994).

**Tab. 4.1: Studien über eine Verminderung des Risikos von Neuralrohrdefekten ohne vorherige Belastung (= occurrence) bei Folsäure-Supplementation**

Autoren	Studiendesign	n	Risikoverminderung (%)
Werler et al. 1993	retrospektive Fall-Kontroll-Studie	3051	60
Czeizel und Dundas 1992	randomisierte Interventionsstudie	4704	100
Mills et al. 1992	retrospektive Fall-Kontroll-Studie	267	0
Bower und Stanley 1989	retrospektive Fall-Kontroll-Studie	154	75
Mills et al. 1989	retrospektive Fall-Kontroll-Studie	571	0
Milunsky et al. 1989	prospektive Kohortenstudie	22776	73
Mulinare et al. 1988	retrospektive Fall-Kontroll-Studie	3176	60

Einige Studien belegen jedoch auch das geringe Wissen junger Frauen über den präventiven Effekt einer perikonzeptionellen Folsäuregabe (Wild et al. 1996) und die geringe Verbreitung von Folsäuresupplementen während der ersten Wochen der Schwangerschaft.



Der erste Besuch beim Gynäkologen findet auch bei einer geplanten Schwangerschaft oft erst nach der kritischen Zeit statt, so daß eine Supplementation zu spät kommt. Im Falle einer ungeplanten Schwangerschaft sind sich die Frauen in dieser ersten Zeit ihrer Schwangerschaft oft nicht bewußt. In einigen Ländern wie den USA und Ungarn wird daher seit einiger Zeit die Anreicherung von bestimmten Lebensmitteln wie Mehl mit Folsäure praktiziert.

#### **4.4 Vegetarismus in der Schwangerschaft**

Wissenschaftliche Untersuchungen zeigen, daß eine ovo-lacto-vegetarische Ernährung zahlreiche positive Effekte mit sich bringt, die zu einer niedrigeren Morbidität (Knutsen 1994) und einer geringeren Mortalität (Key et al. 1996) für ernährungsabhängige Krankheiten wie Diabetes mellitus, Herzinfarkt und Schlaganfall sowie Krebs führen. Zu diesen Ernährungsfaktoren kommt meist eine gesündere Lebensweise mit höherer sportlicher Aktivität und geringerem Alkohol- und Zigarettenkonsum hinzu.

Vegetarier haben seltener Übergewicht und weniger hohen Blutdruck (Dwyer 1988, Beilin 1994). Außerdem sind ihre Blutcholesterinwerte in der Regel niedriger als bei Personen mit durchschnittlicher Ernährungsweise (Franklin et al. 1995, Gould et al. 1995). Ernährungsphysiologisch günstige Nahrungsbestandteile wie komplexe Kohlenhydrate, Ballaststoffe und sekundäre Pflanzenstoffe werden in größeren Mengen aufgenommen; dagegen fällt die Zufuhr ungünstig zu beurteilender Nahrungsinhaltsstoffe, wie gesättigte Fettsäuren, Cholesterin und Purine niedriger aus. Vegetarier haben häufig eine höhere Vitaminzufuhr; dies betrifft besonders die Folataufnahme und führt daher zu einer günstigeren Prognose für die Homocysteinspiegel, die als unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung von koronaren Herz-Kreislauf-Erkrankungen gelten (Janelle und Barr 1995).

Eine ausgewogene ovo-lakto-vegetarische Ernährung wird von der American Dietetic Association (ADA) für alle Lebensphasen als geeignet angesehen (ADA 1999). Diese Einschätzung trifft ausdrücklich auch auf die Schwangerschaft und Stillzeit zu. Nach Einschätzung der ADA ist eine ovo-lakto-vegetarische Ernährung in der Schwangerschaft geeignet, die Anforderungen an die Nahrungsenergie- und Nährstoffversorgung zu gewährleisten. Bei einer veganen Ernährungsform empfiehlt die ADA in der Schwangerschaft und Stillzeit die Einnahme von 2 - 2.6 µg Vitamin B<sub>12</sub>/d in Form von Supplementen. Die Supplementation mit Folsäure wird auch Vegetarierinnen empfohlen, obwohl diese üblicherweise eine höhere Folataufnahme haben als Nicht-Vegetarierinnen (ADA 1999).

## 5 Biochemische Meßgrößen des Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folsäurestatus

Die Bestimmungen des Vitamin-B<sub>12</sub>- sowie des Folsäurestatus sind anhand einer Vielzahl an biochemischen Parametern mit unterschiedlicher Aussagekraft möglich. Eine eingeschränkte Aussagekraft kann durch unzureichende **Sensitivität und Spezifität von Analysemethoden** bedingt sein. Besondere Stoffwechselsituationen, wie sie z.B. in der Schwangerschaft vorliegen, bedürfen aber auch einer gesonderten Berücksichtigung bei der Eignungsbeurteilung. Durch die enge Verknüpfung von Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> im Stoffwechsel ist es notwendig, zur genauen Beurteilung des Vitaminstatus biochemische Parameter zu wählen, die eine Differenzierung zwischen einem Folsäure- und einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel ermöglichen. In diesem Kapitel werden eine Reihe von Parametern dargestellt, die zur Erfassung des Vitamin-B<sub>12</sub>- oder Folsäurestatus verwendet werden und deren Aussagekraft auch unter Berücksichtigung der besonderen Stoffwechselsituation in der Schwangerschaft geprüft und diskutiert wird. Eine Übersicht der aufgeführten biochemischen Parameter ist in Tab. 5.1 dargestellt.

Tab. 5.1: Biochemische Parameter des Folsäure und Vitamin-B<sub>12</sub>-Status

Kapitel	Parameter <sup>2</sup>	Grenzwerte <sup>1</sup> für Mangelsituation	Status-Beurteilung von		Erfaßt <sup>5</sup>
			Vitamin B <sub>12</sub>	Folsäure	
5.1.1	Gesamt-Vitamin-B <sub>12</sub>	< 148 pmol/L	X		ja
	holo-Transcobalamin II	< 10 pmol/L	X		ja
	holo-Haptocorrin	< 111 pmol/L	X		ja
5.1.2	Transcobalamin II-Sättigung	< 4 %	X		ja
	Haptocorrin-Sättigung	< 20 %	X		ja
	Ungesättigte B <sub>12</sub> -Bindungskapazität	--- <sup>3</sup>	X		ja
	Totale B <sub>12</sub> -Bindungskapazität	< 15 %	X		ja
5.2	Vitamin B <sub>12</sub> (Erythrozyten)	< 133 pmol/L	X		ja
5.3	Folsäure (Plasma/Serum)	< 6.8 nmol/L	(X)	X	ja
5.4	Folsäure (Erythrozyten)	< 320 nmol/L	(X)	X	ja
5.5	Homocystein (Plasma/Serum)	> 10 µmol/L	X	X	ja
5.6	Methylmalonsäure (Plasma/Serum)	> 375 nmol/L	X		nein
	(Urin)	> 5 µg/mg Kreatinin	X		nein
5.7	FIGLU (Urin)	50 mg/ 12 h <sup>4</sup>		X	nein
5.8.1	Segmentationsrate	} der neutrophilen Granulozyten	X	X	ja
5.8.2	Segmentationsindex		> 5 %	X	X
5.9	Schilling-Test	> 10 %	X		nein
5.10	dU-Suppression Test	< 8.5 %	X		nein
5.11	Blutbild	siehe Text	X	X	ja

<sup>1</sup> Die Quellen der aufgeführten Normwerte sind im Text aufgeführt und gelten für erwachsene Personen. Sie berücksichtigen keine schwangerschaftsbedingten Abweichungen.

<sup>2</sup> ohne Angabe: Messung in Plasma oder Serum

<sup>3</sup> keine Grenzwerte vorhanden

<sup>4</sup> abhängig von der Höhe der Histidinbelastung. Hier 20 g L-Histidin: > 50 mg/12 h (Herbert 1962).

<sup>5</sup> Parameter wurde für die vorliegende Untersuchung gemessen.

Die Interpretation von Blut- und Grenzwerten während der Schwangerschaft wird insbesondere durch die **Hämodilution** beeinflusst. Die Einführung eines generellen Korrekturfaktors ist aufgrund der starken individuellen Schwankungen bei der Erhöhung des Plasmavolumens nicht möglich (Bartels et al. 1989). Meist findet im ersten Trimenon nur eine leichte Erhöhung statt, der eine progressiv steigende Hämodilution mit einem Maximum in der 25. Schwangerschaftswoche folgt (Lewis et al. 1982, White et al. 1985). Die Steigerung des Plasmavolumens beträgt bei gesunden Frauen mit normalgewichtigen Kindern zwischen 25 und 80 % mit einem Mittelwert von 49 % (Bartels et al. 1989, Chesley 1972). Es ist kein zuverlässiger Meßfaktor verfügbar, mit dessen Hilfe Blutwerte korrigiert werden könnten, da die Erhöhung des Plasmavolumens keine reine Hydrämie ist, sondern sich auch andere Plasmabestandteile verändern. Auch die Albumin-Konzentrationen im Serum stellen aufgrund einer erhöhten Synthese in der Leber während der Schwangerschaft keinen geeigneten Korrekturfaktor dar (Bartels et al. 1989).

## 5.1 Vitamin-B<sub>12</sub>-Fraktionen im Serum

### 5.1.1 Gesamt-Vitamin-B<sub>12</sub> und einzelne Vitamin-B<sub>12</sub>-Proteinfraktionen

Die Bestimmung der **Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum** ist weitverbreitet und wird meist als Standard-Screening-Test bei der Erfassung von Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel benutzt. Trotzdem ist die Aussagekraft der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum aufgrund einer mangelhaften Sensitivität und Spezifität begrenzt und sollte daher durch andere biochemische Parameter ergänzt werden (Green 1995).

Niedrige Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum signalisieren nicht immer einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel und umgekehrt sind normale Serumwerte nicht immer Anzeichen einer guten Versorgung. Grund für diesen Tatbestand ist die Verteilung des im Blut zirkulierenden Cobalamins auf die verschiedenen Bindungsproteine. Der größte Anteil an Vitamin B<sub>12</sub> ist an die Transcobalamine TC I und TC III, das Haptocorrin, gebunden. Diese spielen aber bei der Versorgung der Organe und Gewebe kaum eine Rolle (Jacob et al. 1980). Der geringere Anteil des Vitamin B<sub>12</sub> im Serum (20 - 30 %) ist an das Transcobalamin TC II gebunden (England et al. 1976, Nexo und Anderson 1977); dieses ist für die Versorgung der meisten Körperzellen allein verantwortlich. Bei Patienten mit einem kongenitalen Mangel an TC II konnten trotz schwerem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel teilweise normale Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum festgestellt werden (Hakami et al. 1971).

Das SI-Standardreferenzintervall für Vitamin B<sub>12</sub> im Serum/Plasma bewegt sich von 150-750 pmol/L, eine Mangelsituation liegt bei Werten unterhalb 150 pmol/L vor (Young 1987). Grenzwerte ausgewählter Studien bei schwangeren Frauen sind in Tab. 5.2 darge-

stellt. Die Ergebnisse älterer Publikationen können für einen Vergleich mit neueren Vitamin-B<sub>12</sub>-Messungen nicht mehr oder nur eingeschränkt herangezogen werden, da sie häufig noch mit heute veralteten mikrobiologischen Assays oder veralteten Radioimmunoassays durchgeführt wurden. Diese alten Labormethoden führten häufig zu einer Überschätzung der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen, da auch Cobalamin-Analoga und andere Corrinoiden mitgemessen wurden (Das et al. 1991).

**Tab. 5.2: Grenzwerte für Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum aus ausgewählten Studien bei schwangeren Frauen**

Autoren	Definition des Grenzwertes	Messzeitpunkt	n	Grenzwert (pmol/L)
Metz et al. 1995	akzeptable Grenze	1.-3. Trimenon	-	< 148
Chanarin 1990b	mangelhaft	1.-3. Trimenon	-	< 125
Craft et al. 1971	unter Normalbereich <sup>1</sup>	Geburt	8	< 157
Frery et al. 1992	mangelhaft	Geburt	188	< 148
Bartels et al. 1989	unter Normalbereich <sup>2</sup>	1. Trimenon (12. SSW)	23	< 132
		2. Trimenon (20. SSW)		< 114
		3. Trimenon (36. SSW)		< 98
Caretti et al. 1994	unter Normalbereich	2. Trimenon (27. SSW)	213	< 148

<sup>1</sup> berechnet aus Mean + (2 × SD)

<sup>2</sup> berechnet aus 2.5er Perzentile

Die Messung der einzelnen Proteinfractionen, an die Vitamin B<sub>12</sub> im Serum gebunden ist, gibt weiteren Aufschluß über den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status. Die Konzentrationen von Transcobalamin II-gebundenem Vitamin B<sub>12</sub> (**holo-TC II**) gelten als frühester Indikator einer negativen Vitamin-B<sub>12</sub>-Bilanz und einer beginnenden Depletion der Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher, während die Konzentrationen von Haptocorrin-gebundenem Vitamin B<sub>12</sub> (**holo-Hap**) als guter Indikator für die Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher in der Leber gelten (Wickramasinghe und Fida 1993, Herbert 1994). Verschiedene Grenzwerte aus der Literatur sind in Tab. 5.3 aufgeführt.

### 5.1.2 Vitamin B<sub>12</sub>-Sättigungskapazitäten und freie Vitamin B<sub>12</sub>-Bindungsproteine

Die Sättigungskapazität des Blutes wird durch die zwei Hauptkomponenten TC II und Haptocorrin (TC I + III) bestimmt. Man unterscheidet dabei die ungesättigte Vitamin-B<sub>12</sub>-Bindungskapazität (**UBBC**) und die gesamte Vitamin-B<sub>12</sub>-Bindungskapazität (**TBBC = UBBC + gebundenes Vitamin B<sub>12</sub>**). Sie werden je nach Literaturquelle als Konzentration oder in Prozent angegeben. Die Fähigkeit des Blutes, zugefügtes Vitamin B<sub>12</sub> zu binden, ist dabei wesentlich vom TC-II-Gehalt des Blutes abhängig. Diese Fraktion ist auch deshalb von besonderem Interesse, da die meisten Körperzellen Vitamin B<sub>12</sub> nur in TC-II-gebundener Form aufnehmen können.

Tab. 5.3: Grenzwerte für einzelne Vitamin-B<sub>12</sub>-Fraktionen aus ausgewählten Studien

Autoren	Definition des Grenzwertes	Kollektiv	n	Grenzwert (pmol/L)
<b>holo-TC II</b>				
Wickramasinghe und Fida 1993	unter Normalbereich <sup>1</sup>	gesunde Erwachsene	38	< 10
Herbert 1994 <sup>2</sup>	negative Vitamin B <sub>12</sub> -Bilanz	keine Angabe	-	< 30
Goh et al. 1992	mangelhaft	gesunde Erwachsene	40	< 18
Amin et al. 1992	unter Normalbereich	keine Angabe	-	< 62
<b>holo-Hap</b>				
Wickramasinghe und Fida 1993	unter Normalbereich <sup>1</sup>	gesunde Erwachsene	38	< 111
Herbert 1994	negative Vitamin B <sub>12</sub> -Bilanz mangelhaft	keine Angabe	-	< 111 < 74

<sup>1</sup> unterhalb des 95%-Referenzbereiches

<sup>2</sup> Werte wurden im Lauf der Jahre immer wieder abgewandelt, der Vorgang ist nicht aufgrund von veröffentlichten Daten nachvollziehbar. Sie basieren wahrscheinlich (in gerundeter Form) auf Herzlich und Herbert 1988.

Im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel sinkt der Anteil an holo-TC II im Blut schnell ab, gefolgt von einem Abfall der holo-Hap-Fraktion (Herbert 1996). Das bedeutet ein Ansteigen der Anteile der freien Transcobalamine und damit einen Anstieg der ungesättigten Bindungskapazitäten. Im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel sinkt die TBBC unter 15 %, die TC-II-Sättigung unter 4 % (Herbert 1996) und die Hap-Sättigung unter 20 %.

In der Schwangerschaft scheint es physiologische Veränderungen in den Transcobalamin-Fraktionen aufgrund hormoneller Veränderungen und Hämodilution zu geben (Sullivan et al. 1997, Fernandes-Costa und Metz 1982) (Tab. 5.4). Über die prozentuale Sättigung der einzelnen Transcobalamine in der Schwangerschaft gibt es bisher keine Informationen.

## 5.2 Vitamin B<sub>12</sub> im Erythrozyten

Die Erythrozyten enthalten höhere Konzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> als Plasma oder Serum und gelten als Spiegel der intrazellulären Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher (Herbert 1959, Tisman et al. 1993). Es gibt bisher nur wenige Studien, in denen die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten bestimmt wurden. Als Grenzwert für einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel wird von Herbert (1994) ein Wert unter 111 pmol/L, von Tisman et al. (1993) ein Wert unter 133 pmol/L angegeben. Werte unter 148 pmol/L sind nach Herbert (1994) ein Anzeichen für eine beginnende Depletion. Untersuchungen über den Verlauf der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten während der Schwangerschaft gibt es bisher nicht.

Eine Untersuchung wurde von Harrison (1971) an einem anämischen Patientenkollektiv (n = 10) vorgenommen, von denen 6 Patientinnen schwanger waren. Der Normalbereich wird mit 114 ± 26 pmol/L angegeben; die Ergebnisse sind aber nur schwer vergleichbar, da sie mit mikrobiologischen Assays gewonnen wurden. Jathar und Inamdar-Deshmukh (1981)

beobachteten bei schwangeren Inderinnen, die eine lakto-vegetarische Ernährung mit einem sehr geringen Verzehr von Lebensmitteln tierischen Ursprungs praktizierten und einen Hämoglobin-Wert über 100 g/L hatten, Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten vom  $93 \pm 9$  pmol/L. Bei Schwangeren mit einem Hämoglobin-Wert unter 100 g/L lag die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentration im Erythrozyten bei  $60 \pm 8$  pmol/L.

**Tab. 5.4: Vergleichswerte (Mean  $\pm$  SD) für Vitamin-B<sub>12</sub>-Sättigungskapazitäten und einzelne Vitamin-B<sub>12</sub>-Fraktionen aus ausgewählten Studien bei gesunden, schwangeren Frauen**

Autoren	n	Messzeitpunkt	Vergleichswert pmol/L
<b>TBBC</b>			
Fernandes-Costa und Metz 1982	47	1. Trimenon	1133 $\pm$ 145
	62	2. Trimenon	964 $\pm$ 155
	61	3. Trimenon	1191 $\pm$ 177
<b>UBBC</b>			
Fernandes-Costa und Metz 1982	47	1. Trimenon	635 $\pm$ 100
	62	2. Trimenon	588 $\pm$ 145
	61	3. Trimenon	930 $\pm$ 236
Bloomfield et al. 1973	6	Geburt	2011 (1713-2341) <sup>1</sup>
Sullivan et al. 1967	29	keine Angabe	1003 <sup>2</sup>
<b>TC I</b>			
Fernandes-Costa und Metz 1982	47	1. Trimenon	48 $\pm$ 17
	62	2. Trimenon	78 $\pm$ 24
	61	3. Trimenon	108 $\pm$ 27
Bloomfield et al. 1973	6	Geburt	175 (162-183) <sup>1</sup>
<b>TC II</b>			
Fernandes-Costa und Metz 1982	47	1. Trimenon	481 $\pm$ 94
	62	2. Trimenon	396 $\pm$ 125
	61	3. Trimenon	642 $\pm$ 198
Bloomfield et al. 1973	6	Geburt	145 (111-173) <sup>1</sup>
<b>TC III</b>			
Fernandes-Costa und Metz 1982	47	1. Trimenon	106 $\pm$ 32
	62	2. Trimenon	114 $\pm$ 42
	61	3. Trimenon	187 $\pm$ 55
Bloomfield et al. 1973	6	Geburt	367 (276-443) <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Mean (Range)    <sup>2</sup> ohne Angabe von Streuungsmaßen

### 5.3 Folsäure im Plasma/Serum

Die Konzentration von Folat im Plasma gibt nicht den Zustand der Folatspeicher in den Geweben wieder, sondern ist vielmehr ein sehr empfindlicher Indikator für die momentane Folatbilanz (Gibson 1990, Herbert 1987, Sauberlich et al. 1974, Sauberlich 1984). Die tägliche Folataufnahme und zeitliche Veränderungen im Folatstoffwechsel verursachen temporäre Schwankungen bei den Folatkonzentrationen im Plasma, auch wenn die Folatspeicher in den Geweben konstant und ausreichend sind (Gibson 1989). Niedrige Konzentrationen von Folat im Plasma sind nur ein Anhaltspunkt für eine negative Folatbilanz zum Zeitpunkt der Blutentnahme (Herbert 1987). Obwohl auch die nüchtern gemessenen Serum- oder Plasma-Konzentrationen einen guten Indikator für den Folatstatus darstellen,

können sie von kurzfristigen Veränderungen in der Folataufnahme beeinflusst sein (Shane 1995). Erst ein wiederholtes Auftreten niedriger Folatkonzentrationen im Plasma über einen Zeitraum von mehreren Wochen läßt auf einen Folatmangel schließen.

Das Plasma-Folat wird wie alle Blutparameter, die im Plasma gemessen werden, durch die starke Hämodilution in der Schwangerschaft beeinflusst. Ähnlich wie die Konzentration von Vitamin B<sub>12</sub> fällt die Konzentration von Folat im Plasma kontinuierlich während der Schwangerschaft ab (Hall et al. 1976). Hall et al. (1976) konnten aber auch nachweisen, daß bei Berücksichtigung der Steigerung im Plasmavolumen kein Netto-Abfall stattfindet. Da die Steigerung des Plasmavolumens in der Schwangerschaft starken interindividuellen Schwankungen unterliegt, ist die Bedeutung niedriger Folatspiegel im Plasma nur schwer zu bewerten.

Aufgrund der Wechselwirkungen zwischen dem Folat- und dem Vitamin-B<sub>12</sub>-Stoffwechsel kann es im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel zu Veränderungen der Folatkonzentrationen im Plasma kommen. Im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel ist die Aufnahme von Folat in die Zellen erniedrigt, was zu einem Anstieg von Plasma-Folat führt (Methylfolatfalle) (Shane und Stokstad 1985, Chanarin et al. 1974, Tisman und Herbert 1973). Erhöhte Folatkonzentrationen im Plasma wurden bei makrobiotischen Kindern, die unter einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel litten (Dagnelie et al. 1989), sowie bei Langzeit-Veganern beobachtet (Bar-Sella et al. 1990).

Der übliche Grenzwert für Folsäure im Plasma für Erwachsene liegt bei 6.8 nmol/L und wird auch als Bewertungskriterium in der Schwangerschaft herangezogen (Tab. 5.5).

**Tab. 5.5: Grenzwerte für Plasma-Folat aus ausgewählten Studien bei schwangeren Frauen**

Autoren	Definition des Grenzwertes	Messzeitpunkt	n	Grenzwert (nmol/L)
Bailey et al. 1980	mangelhaft marginal	1.-3. Trimenon	199	< 6.8 6.8-13.6
Lehti 1989	akzeptable Grenze	1. Trimenon 3. Trimenon	25	> 13.8 > 10.2
Huber et al. 1988	mangelhaft marginal akzeptabel	keine Angaben	213	< 6.8 6.8-13.4 > 13.6
Blot et al. 1981	akzeptable Grenze	Ende 6. Schwanger- schaftsmonat	200	≥ 9
Caudill et al. 1997	akzeptable Grenze	2. Trimenon	12	< 13.6
Frery et al. 1992	mangelhaft	Geburt	188	< 5.6

## 5.4 Folsäure im Erythrozyten

Die Erythrozyten enthalten höhere Konzentrationen an Folat als Plasma oder Serum. Fast das gesamte Folat liegt als Polyglutamatderivate der 5-Methyl-THF vor. Reife rote Blutzellen haben nur eine geringfügige Kapazität zum Transport und zur Akkumulation von Folaten.

Die vorhandenen Speicher werden also fast ausschließlich im Verlauf der Erythropoese akkumuliert und während der gesamten Lebenszeit der Zelle gespeichert. Aus diesem Grund sind die Folatkonzentrationen des Erythrozyten ein hervorragender Indikator für den Langzeit-Folatstatus (Shane 1995). Sie spiegeln aufgrund der geringen Beeinflussung durch kurzzeitige Schwankungen den Zustand der Folatspeicher in den Geweben wieder (Sauberlich et al. 1974, Sauberlich 1984).

Die Folatkonzentration des einzelnen Erythrozyten spiegelt den Folatstatus im Augenblick der Bildung des Erythrozyten wider. Aufgrund der langen Halbwertszeit von Erythrozyten von etwa 120 Tagen besteht bei einer plötzlichen Folatdepletierung, wie sie in der Schwangerschaft auftreten kann, die Möglichkeit einer Unterschätzung der Depletierung in den Geweben (Chanarin et al. 1968, Herbert 1987b, O'Connor 1994).

Der Grenzwert für eine mangelhafte Versorgung liegt bei 317 nmol/L (IOM 1998). Einige Grenzwerte, die zur Beurteilung des Folatstatus während der Schwangerschaft herangezogen werden, sind in Tab. 5.6 dargestellt.

**Tab. 5.6: Grenzwerte für Folatkonzentrationen im Erythrozyten aus ausgewählten Studien bei schwangeren Frauen**

Autoren	Definition des Grenzwertes	Messzeitpunkt	n	Grenzwert (nmol/L)
Bailey et al. 1980	hohes Mangelrisiko niedriges Mangelrisiko	1.-3. Trimenon	199	< 317) 317-362
Lehti 1989	akzeptable Grenze	1. Trimenon 3. Trimenon	25	> 356 > 267
Huber et al. 1988	akzeptable Grenze	keine Angaben	213	> 340
Blot et al. 1981	akzeptable Grenze	Ende 6. Schwangerschaftsmonat	200	> 453
Caudill et al. 1997	akzeptable Grenze	2. Trimenon	12	> 363

## 5.5 Homocystein

Homocystein (HCY) ist das demethylierte Produkt der essentiellen Aminosäure Methionin. Es kann über 2 Wege weiter verarbeitet werden. Die größere Menge Homocystein wird über das Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängige Enzym Cystathioninsynthase abgebaut. Ein maßgeblicher Anteil des HCY wird durch die Methioninsynthase zu Methionin regeneriert. Diese Reaktion ist Folat- und Vitamin-B<sub>12</sub>-abhängig. Sowohl im Folat- als auch im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel steigen die Homocystein -Konzentrationen im Organismus an.

Zuverlässige Referenzintervalle für Homocysteinkonzentrationen im Plasma und Serum konnten nach Rasmussen et al. (1996) bisher nicht etabliert werden. Zur Zeit werden 2 Möglichkeiten diskutiert, normale Homocystein-Bereiche festzulegen:



- auf der Grundlage der Verteilung, die in einer gesunden Vitamin-supplementierten Gruppe oder
- auf der Grundlage der Verteilung, die in der Allgemeinbevölkerung gefunden wird (Rasmussen et al. 1996).

Homocysteinwerte von über 10 µmol/l werden bei gesunden Männern und Frauen erst im höheren Alter erreicht. Diese Grenze wird von den Autoren als „Risikoschwelle“ bzw. „kritische Grenze“ bewertet (Rasmussen 1996, Lucock et al. 1996, Lussier-Cacan et al. 1996).

Durch die steigende Hämodilution während der Schwangerschaft sinken die Homocysteinwerte von schwangeren Frauen gegenüber nicht-schwangeren Frauen signifikant ab (Walker et al. 1999) (Tab. 5.7).

Die Homocystein-Konzentrationen weisen eine starke Korrelation mit den Albumin-Konzentrationen auf ( $r = 0.47$ ,  $p < 0.001$ ); etwa 70-80% des Homocystein ist albumin-gebunden (Walker et al. 1999, Ueland 1995). Bailey (1998) und Bonnette et al. (1998) kommen zu dem Schluß, daß die Homocysteinkonzentrationen während der Schwangerschaft den Folatstatus nicht adäquat wiedergeben und vermuten hormonale Einflüsse und Hämodilution als Ursache der Veränderungen. Dieser Bewertung widerspricht aber die Beobachtung, daß auch in der Schwangerschaft die Homocysteinwerte durch Gabe von Folsupplementen gesenkt werden können (Walker et al. 1999). Die Homocysteinwerte sollten aber - wie bei anderen Blutparametern auch - nicht anhand von Grenzwerten bewertet werden, die bei nicht-schwangeren Personen gewonnen wurden. Metz et al. (1995) empfehlen die Messung der Homocysteinkonzentrationen zur Bewertung eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels (bei Ausschluß von Folatmangel) in der Schwangerschaft. Empfehlungen für Grenzwerte bei schwangeren Frauen in den verschiedenen Stadien der Schwangerschaft gibt es derzeit nicht. Vergleichswerte ausgewählter Studien sind in Tab. 5.7 dargestellt.

**Tab. 5.7: Vergleichswerte für Homocysteinkonzentrationen aus ausgewählten Studien bei gesunden, schwangeren Frauen**

Autoren	n	Messzeitpunkt	HCY (µmol/L) <sup>1</sup>
Walker et al. 1999	155	1. Trimenon (8-16 SSW)	5.6 ± 1.61
		2. Trimenon (20-28 SSW)	4.3 ± 1.01
		3. Trimenon (36-42 SSW)	5.5 ± 2.31
Bonnette et al. 1998	6	2. Trimenon (18-26 SSW)	5.4 ± 1.41
Böhles et al. 1999	45	26-41 SSW	5.5 ± 2.81
Metz et al. 1995	25	12-40 SSW	6.2 (5.1-7.5) <sup>2</sup>
Adams et al. 1995	132	2. Trimenon	5.0 <sup>3</sup>
Stegers-Theunissen et al. 1997	23	1. Trimenon (8-12 SSW)	8.7 (6-13.1) <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Mean ± SD

<sup>2</sup> GM (CI-95%)

<sup>3</sup> ohne Angabe von Streuungsmaßen

<sup>4</sup> Median (range)

## 5.6 Methylmalonsäure

Die Konzentrationen an Methylmalonsäure (MMA) steigen im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel sowohl im Serum als auch im Urin an, da Adenosylcobalamin für die Isomerisation von Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA benötigt wird. Sie werden sowohl im Serum (Carmel et al. 1996, Chanarin und Metz 1997, Chanarin und Metz 1998) als auch im Urin (Norman 1998) als valide Indikatoren für den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status angesehen.

Den Grenzwert für MMA-Konzentrationen im Serum geben Metz et al. (1995) mit 375 nmol/L, Sumner et al. (1996) mit 271 nmol/L an. Im Urin sieht Norman (1998) Werte über 5 µg/mg Kreatinin als erhöht an. In der Schwangerschaft scheint die Bestimmung der MMA-Konzentrationen im Serum jedoch nur von geringem Wert zu sein. Metz et al. (1995) fanden bei schwangeren Frauen (n = 75) weder eine Korrelation zwischen der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentration im Serum und den MMA-Konzentrationen noch erhöhte Werte bei den Personen, die einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel aufwiesen. Sie vermuten, daß die MMA-Werte in der Schwangerschaft durch Veränderungen der renalen Funktion (Allen et al. 1990) oder Veränderungen in der Darmflora (Lindenbaum et al. 1990) beeinflusst sein könnten. Adams et al. (1995) stellten dagegen fest, daß bei schwangeren Frauen (n = 33), deren Fetus einen Neuralrohrdefekt aufweist, im 2. Trimenon die MMA-Konzentrationen im Serum erhöht sind.

## 5.7 Formiminoglutaminsäure

Bei der Messung der Formiminoglutaminsäure-Exkretion im Urin handelt es sich um einen funktionellen Test zur Bewertung des Folatstatus. Histidin wird zu Formiminoglutaminsäure (FIGLU) umgewandelt, der anschließende Schritt zur Konvertierung in Glutaminsäure ist folatabhängig (Gibson 1990). Im Folatmangel ist dieser Schritt nicht möglich; bei einem Histidinbelastungstest kommt es zu einer Anreicherung von FIGLU im Organismus sowie einer erhöhten Ausscheidung (> 50 mg/12 h nach 20 g L-Histidin) von FIGLU im Urin (Herbert 1962).

Der Zusammenhang zwischen einer erhöhten FIGLU-Exkretion und einem Folatmangel in der Schwangerschaft ist umstritten. Während in einigen Studien ein starker Zusammenhang zwischen FIGLU-Exkretion und Folatstatus festgestellt werden konnte (Stone et al. 1967, Blocker 1989), konnte dieses in anderen Studien nicht bestätigt werden (Lowenstein et al. 1966, Sauberlich et al. 1987). Es gibt bisher kaum Daten über die FIGLU-Exkretion bei schwangeren Frauen. Die Untersuchungen von Blocker et al. (1989) bei schwangeren Affen zeigen jedoch, daß im Schwangerschaftsverlauf eine physiologische Erhöhung der FIGLU-Exkretion stattfindet. Chanarin (1985, 1994) hingegen stuft die Messung der FIGLU-Exkretion in der Schwangerschaft als wertlos ein und begründet dieses durch Veränderung

der Histidinabsorption, renale Veränderungen der Histidinretention und einen verringerten Histidinkatabolismus während der Schwangerschaft. Weiterhin könnte eine mögliche Aufnahme von Histidin durch die Plazenta, die Bewertung eines Histidinbelastungstestes unmöglich machen (Chanarin 1985, Chanarin 1994).

## 5.8 Segmentierung der neutrophilen Granulozyten

Durch die Rolle von Folat in der DNA-Biosynthese kommt es im Folatmangel auch zu morphologischen Veränderungen der Blutzellen. Ein sehr frühes Zeichen eines hämatologischen oder funktionellen Folatmangels ist ein Anstieg der Kernsegmente der neutrophilen Granulozyten (Herbert et al. 1967, Sauberlich et al. 1974). Dieser funktionelle Parameter verändert sich bei einer unzureichenden Versorgung früher als die Folatkonzentration im Erythrozyten (Herbert 1987). Bedingt durch den funktionellen Folatmangel infolge eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels kann der Anstieg der Kernsegmentation der neutrophilen Granulozyten nicht zur Differenzierung zwischen einem Vitamin-B<sub>12</sub>- und einem Folatmangel dienen.

### 5.8.1 Segmentationsrate

Unter der Segmentationsrate wird die durchschnittliche Anzahl von Kernsegmenten der neutrophilen Granulozyten verstanden. Die Segmentationsrate ist bei Personen mit einer megaloblastischen Anämie signifikant erhöht (Kitay et al. 1969). Hibbard und Hibbard (1971) stellten eine starke Korrelation zwischen der Segmentationsrate der neutrophilen Granulozyten und den Folatkonzentrationen in Serum und Erythrozyten fest.

In der Schwangerschaft ist die Segmentationsrate nur von eingeschränkter Aussagekraft, da die neutrophilen Granulozyten in der Schwangerschaft die Tendenz zur Hyposegmentation haben und Personen mit einem leichten Folatmangel nicht identifiziert werden können (Gadowsky et al. 1992, Herbert et al. 1975, Chanarin et al. 1968, Lowenstein et al. 1966). Kitay et al. (1969) ermittelten für schwangere Frauen (n = 188) eine mittlere Segmentationsrate von 2.90 (SD = 0.36) gegenüber 3.07 (SD = 0.32) bei nicht-schwangeren Frauen (n = 57). Eine Hypersegmentation liegt vor, wenn die Segmentationsrate über 3.5 Segmenten liegt (Herbert 1987, O'Connor 1994). Als Grenzwert für schwangere Frauen geben Hibbard und Hibbard (1971) eine Segmentationsrate von über 3.0 Segmenten an.

### 5.8.2 Segmentationsindex

Der Segmentationsindex steht für die prozentuale Anzahl neutrophiler Granulozyten, die hypersegmentiert (5 oder mehr Kernsegmente) sind (Herbert und Colman 1988). Der Segmentationsindex ist ein hilfreicher Parameter bei der Beurteilung des Folat- und Vitamin-B<sub>12</sub>-Status und spiegelt die Versorgung der Zellen mit den beiden Vitaminen wieder (Wright 1990, Bills und Spatz 1976). Von einer Hypersegmentation wird gesprochen, wenn mehr als 5 % der Granulozyten fünf oder mehr Kernsegmente aufweisen (Stabler et al. 1990) oder Granulozyten mit mehr als 5 Kernsegmenten vorliegen (O'Connor 1994, Stabler et al. 1990). Bills und Spatz (1976) sprechen dagegen erst ab 30 % der Granulozyten mit 5 oder mehr Kernsegmenten von einer Hypersegmentation.

### 5.9 Schilling-Test

Beim Schilling-Test handelt es sich um einen **Vitamin-B<sub>12</sub>-Resorptionstest**, bei dem die Ausscheidung von oral verabreichtem, radioaktiv markiertem Vitamin B<sub>12</sub> im Urin ermittelt wird. Sie ist bei Patienten mit einer Vitamin-B<sub>12</sub>-Resorptionsstörung vermindert; mindestens 10% der verabreichten Dosis sollten im Urin messbar sein (Schumacher 1974, Thomas 1992). Der Schilling-Test kann bei der Beurteilung des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status nur zur Berechnung der Resorptionsrate und zum Ausschluß organischer Erkrankungen wie Magen- oder Dünndarmleiden verwendet werden. Die Durchführung des Tests ist sehr aufwendig, die Ergebnisse oft unzuverlässig und schwer interpretierbar (Magnus und Müller 1995). Über eine Veränderung der Ergebnisse des Schilling-Tests aufgrund einer veränderten Vitamin-B<sub>12</sub>-Resorption in der Schwangerschaft gibt es bisher keine Daten.

### 5.10 dU-Suppression-Test

Da Folat für die Methylierung von Desoxyuridin zu Thymidin benötigt wird, ist im Folatmangel die Thymidinsynthese behindert. Der Desoxyuridin-Suppression-Test (dUST) wurde entwickelt, um zwischen einem funktionellen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel und einem Folsäuremangel durch die Messung Vitamin-B<sub>12</sub>- und folsäureabhängiger Enzyme differenzieren zu können. Unter normalen Bedingungen bewirkt die Gabe von nicht-radioaktivem Desoxyuridin zu Kurzzeit-Kulturen von proliferierenden Zellen (aus Knochenmark, Lymphozyten oder Vollblut) die *de novo* Synthese von Thymidylat. Sie unterdrückt gleichzeitig den Einbau von radioaktivem Thymidin in die DNA durch Reutilisierung (salvage pathway). Im Vitamin-B<sub>12</sub>- und/oder Folsäuremangel ist diese Unterdrückung durch die behinderte *de novo* Synthese

verringert und das radioaktive Thymidin wird vermehrt eingebaut. Als Normalwert geben Carmel et al. (1996) eine Suppressionsrate von etwa 8.5 % an. Durch eine anschließende Zugabe von Vitamin B<sub>12</sub> kann zwischen den Vitaminen als Ursache des Mangels differenziert werden. Erfolgt auf die Vitamin-B<sub>12</sub>-Gabe keine Veränderung der Suppressionsrate, liegt ein Folsäuremangel vor (Das et al. 1978, Das et al. 1980, Metz 1984).

Nach Sauberlich et al. (1987) sind die Ergebnisse dieses Testes nicht sehr zuverlässig und weisen keine zufriedenstellenden Korrelationen mit den Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten auf. Tamura et al. (1990) stellten fest, daß die Ergebnisse des dUST mit Vollblut einen größeren Variationskoeffizienten (25-30 %) aufweisen als entsprechende Untersuchungen der Folatkonzentrationen im Serum oder Erythrozyten. Wickramasinghe (1980) berichtet von fehlerhaften Ergebnissen des dUST nach Zugabe von Vitamin B<sub>12</sub> oder Folsäure und damit einer eingeschränkten Aussagekraft des Testes. Es gibt bisher keine Veröffentlichungen über die Validität und Spezifität des dUST bei schwangeren Frauen.

## 5.11 Blutbild

Die Bestimmung des Blutbildes („kleines Blutbild“) umfasst die Messung von Hämoglobin (Hb), Hämatokrit (Hk), die Erythrozytenindizes mittleres zelluläres Volumen (MCV), mittleres korpuskuläres Hämoglobin (MCH), und mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) sowie Erythrozyten-, Thrombozyten- und Leukozytenzahl.

Sowohl im Vitamin-B<sub>12</sub>- als auch im Folsäuremangel kommt es zu einer megaloblastischen Anämie mit erniedrigtem Hb-Wert (< 120 g/L) und Erythrozytenzahl (<  $3.5 \times 10^{12}/L$ ) sowie erhöhtem MCV (> 10 fl), MCH (> 33 pg) und MCHC (> 370 g/L) (Young 1990).

Veränderungen im Blutbild sind während der Schwangerschaft nur schwer zu bewerten. Der Hb-Wert sinkt aufgrund der Hämodilution in der Schwangerschaft ab. Ein leichtes Ansteigen des MCV um etwa 4 Femtoliter (fl) ist ebenfalls physiologisch; in manchen Fällen wird auch ein Anstieg um bis zu 20 fl beobachtet, ohne Anzeichen einer megaloblastischen Anämie (Chanarin 1985). Dieser Anstieg konnte auch nicht durch die Gabe von Folsäure-Supplementen verhindert werden (Chanarin et al. 1977). Zudem führt ein Eisenmangel, wie er in der Schwangerschaft häufig latent vorhanden ist, zu einer Erhöhung der Anzahl kleinerer Blutzellen und damit zu einer Überdeckung der Auswirkungen eines Vitamin-B<sub>12</sub>- bzw. Folsäuremangels (Chanarin 1985). Carretti et al. (1993) berichten, daß bei schwangeren Frauen (n = 205) nur die MCHC-Werte eine gute Korrelation mit Konzentrationen von Vitamin B<sub>12</sub> im Serum aufwiesen (r = 0.219, p = 0.001); Hb, Hk, MCV und MCH korrelierten nicht signifikant.

## 6 Studienbeschreibung und Durchführung

### 6.1 Studiendesign

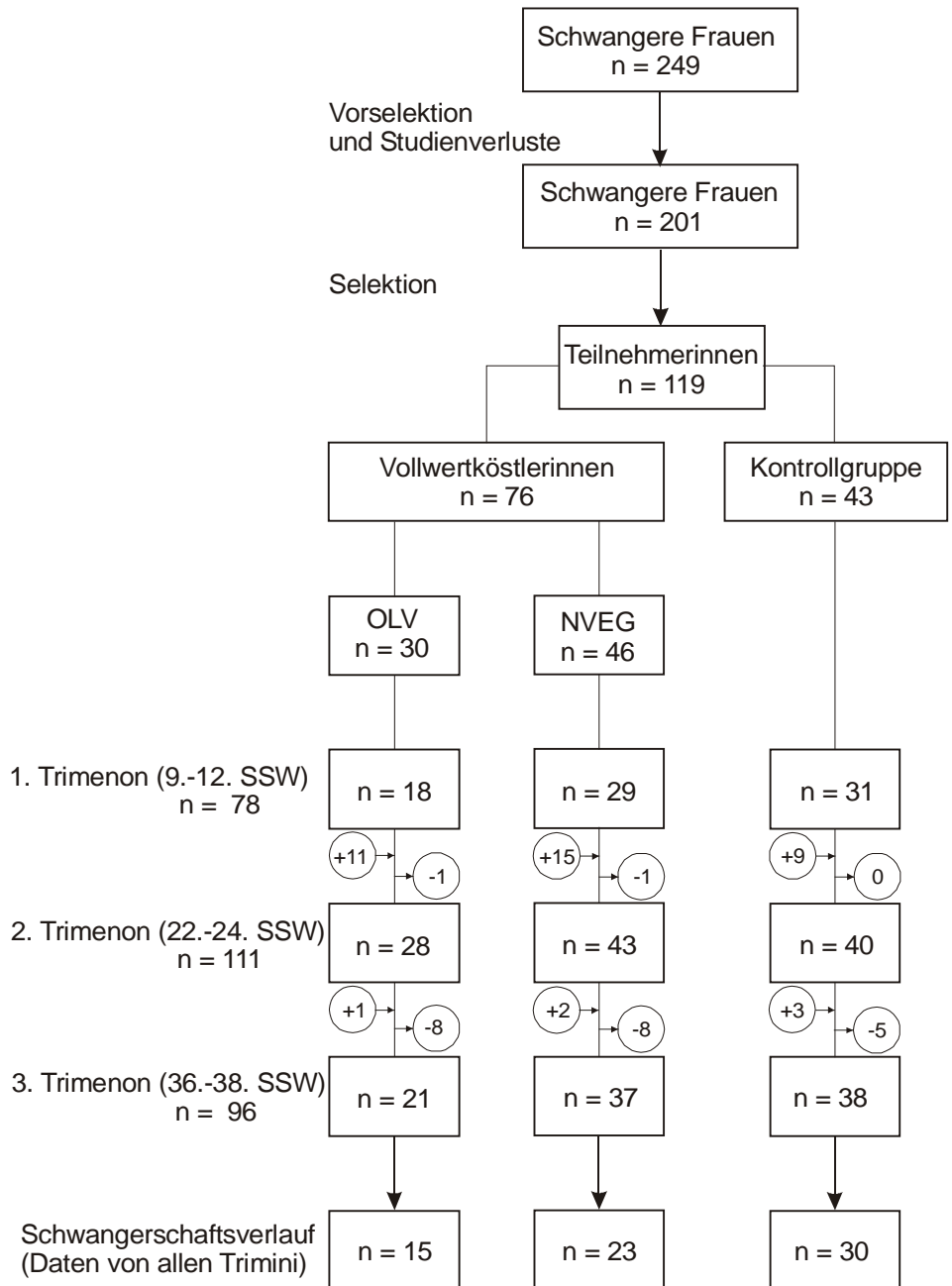
Das Forschungsprojekt „Nährstoffversorgung in der Schwangerschaft“ ist als prospektive longitudinale Kohortenstudie angelegt. Als Instrumente dienten Fragebögen, Anamnese, Ernährungsprotokoll und Schwangerschaftstagebuch (s. Anhang). Darüber hinaus wurden Blut-, Urin- und Haaranalysen durchgeführt. In jedem Schwangerschaftsdrittel fand ein Untersuchungstermin mit Anamnese, Ernährungsprotokoll und Blutentnahme statt. Hierzu wurden standardisierte Zeiträume (9.-12., 20.-22., 36.-38. SSW, post menstruationem) gewählt, um schwangerschaftsbedingte Störgrößen auszuschließen. Das Design als prospektive Kohortenstudie ermöglicht es, Rückschlüsse auf die zeitliche Abfolge von Exposition - durch die jeweilige Ernährungsform - und Auftreten eines Ereignisses - z.B. einer Mangelsituation - zu ziehen und eine direkte Risikobestimmung vorzunehmen (Willet 1998 S 9). Die Anlage als Longitudinalstudie erhöht die Aussagekraft der Daten gegenüber einer Querschnittsstudie und gibt in der besonderen Situation der Schwangerschaft weiteren Aufschluß über den Verlauf von Blutparametern in den physiologisch unterschiedlichen Zeitabschnitten der Schwangerschaft.

### 6.2 Rekrutierung und Auswahl der Studienteilnehmerinnen

In Zusammenarbeit mit den lokal niedergelassenen Gynäkologinnen und Gynäkologen, durch Anzeigen in Zeitschriften sowie durch Aushänge wurden schwangere Frauen für die Studie rekrutiert. Interessierte Frauen erhielten zunächst ein Informationsblatt über die Studie und einen einseitigen Kurzfragebogen, in dem die Form der Ernährung sowie das weitere Interesse an der Studie erfragt wurde. Insgesamt haben sich 249 Frauen gemeldet (Abb. 6.1). Davon waren 20 Frauen nicht an einer weiteren Studienteilnahme interessiert und weitere 24 Frauen wurden im Vorfeld von der Studie ausgeschlossen.

Ausschlußgründe waren eine Zwillingsschwangerschaft ( $n = 1$ ), die Einnahme von Multivitamin- und Multimineralstoffpräparaten ( $n = 9$ ) und eine zu große Entfernung des Wohnortes (über 200 km) vom Studienort Gießen ( $n = 14$ ). Insgesamt erhielten 203 Frauen einen ausführlichen Fragebogen, in dem neben soziodemographischen Daten (u.a. Ausbildung, Haushaltseinkommen), gesundheitsbezogenes Verhalten (Rauchverhalten, Sport etc.), Gesundheitszustand (einschließlich Krankheitsanamnese), die Einnahme von Medikamenten und Supplementen sowie Daten zum Menstruationszyklus vor der Schwangerschaft und zu vorherigen Schwangerschaften erfragt wurden. Zur späteren Einteilung der potentiellen

Studienteilnehmerinnen in die einzelnen Kostformgruppen diente eine semiquantitative Häufigkeitstabelle (food frequency questionnaire, FFQ), die ebenfalls im Fragebogen enthalten war.



⊕ = hinzukommende Studienteilnehmerinnen

⊖ = ausscheidende Studienteilnehmerinnen

Angaben der Schwangerschaftswochen (SSW): post menstruationem

Abb. 6.1: Aufteilung der Studienteilnehmerinnen auf Kostgruppen und Trimester

Den Fragebogen haben 201 Frauen ausgefüllt zurückgesendet (Rücklaufquote 99 %). Aus diesem Kollektiv wurden Frauen in die Studie aufgenommen, die mindestens zwei Jahre Vollwert-Ernährung praktizieren (n = 76), und Frauen, die sich etwa gemäß dem Bundesdurchschnitt ernähren (n = 43). Frauen, die keiner Gruppe eindeutig zugeordnet werden konnten, wurden von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen (n = 68); ebenso wurden Frauen ausgeschlossen, die Multivitamin- und Multimineralstoffpräparate eingenommen haben (n = 10) und bei denen eine Stoffwechselerkrankung vorlag (n = 4).

Das Ernährungsverhalten der Vollwertköstlerinnen (VWK) unterscheidet sich definitionsgemäß von der Ernährung der Kontrollgruppe (CG) durch einen höheren Verzehr von unerhitztem Gemüse, Vollkornprodukten und einem geringeren Verzehr an Fleisch- und Wurstwaren. In Tab. 6.1 sind die Auswahlkriterien für beide Gruppen aufgeführt, die in Anlehnung an die Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie (Hoffmann 1994, Groeneveld 1994) getroffen wurden.

**Tab. 6.1: Auswahlkriterien für Vollwertköstlerinnen und Kontrollgruppe**

<b>Vollwertköstlerinnen (VWK)</b>	<b>Kontrollgruppe (CG)</b>
> 700 g unerhitztes Gemüse pro Woche	≤ 700 g unerhitztes Gemüse pro Woche
< 300 g Fleisch und 105 g Wurst(waren) pro Woche	≥ 300 g Fleisch und 105 g Wurst(waren) pro Woche
Weißmehlprodukte: Vollkornprodukte Quotient < 0,95	Weißmehlprodukte : Vollkornprodukte Quotient ≥ 1,05

Die VWK wurden zusätzlich in Ovo-Lakto-Vegetarierinnen (OLV) und Nicht-Vegetarierinnen (NVEG) unterteilt. Im Verlauf der Schwangerschaft haben 3 OLV Fleisch, Wurstwaren (etwa 31 g/Tag) und/oder Fisch (etwa 9 g/Tag) verzehrt. Da sie jedoch 7, 10 und 12,5 Jahre vor der Schwangerschaft eine vegetarische Ernährung praktiziert haben, werden sie im Folgenden weiterhin der Gruppe der Vegetarierinnen zugeordnet. Veganerinnen wurden nicht in die Studie aufgenommen, da eine vegane Ernährung nicht den Empfehlungen für eine Vollwert-Ernährung entspricht.

Um eine gleichbleibende Studienpopulation zu gewährleisten und mögliche Studienverluste zu ersetzen, war eine Studienteilnahme zu jedem Zeitpunkt der Schwangerschaft möglich. Insgesamt 68 Teilnehmerinnen (57 %) wurden während der gesamten Schwangerschaft beobachtet und untersucht (Abb. 6.1). Aufgrund eines verfrühten Geburtstermins vor dem vereinbarten 3. Erhebungszeitpunkt konnten 4 Frauen nicht vollständig erfaßt werden.



### 6.3 Erhebung der Nährstoffzufuhr

Zur Erfassung von Lebensmittelverzehr und Nährstoffaufnahme wurde in jedem Schwangerschaftstrimenon (9.-12., 20.-22. und 36.-38. Schwangerschaftswoche) ein geschlossenes 4-Tage-Ernährungsprotokoll geführt. Die Erhebungsphase erstreckte sich von Sommer 1995 bis Herbst 1997, so daß saisonale Schwankungen für Teilnehmerinnen beider Gruppen gleichermaßen nivelliert wurden. Es wurde ein Schätzprotokoll gewählt, das leicht modifiziert von der vorausgegangenen Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie übernommen wurde (Hoffmann 1994). Das Protokoll wurde als 7-Tage-Ernährungsprotokoll von Groeneveld und Hoffmann für die Zielgruppe der Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie erstellt und validiert (Hoffmann et al. 1994). Es enthält 153 Lebensmittelitems, die in haushaltsüblichen Portionseinheiten (z.B. Scheibe, Löffel) sowie dem dazugehörigen Gewicht angegeben sind. Darüber hinaus sind ausführliche Erläuterungen und fotografische Abbildungen von Portionsgrößen abgedruckt. Zahlreiche Lebensmittel wurden differenziert nach Fettgehalt (Milchprodukte, Fleischwaren) und Erhitzungsgrad (unerhitzt/erhitzt bei Gemüse und Obst) aufgeführt.

Schätzprotokolle haben gegenüber Wiegeprotokollen den Vorteil einer höheren Compliance. Zudem wird die Beeinflussung des Eßverhaltens geringer eingeschätzt (Bingham et al. 1988). Ein Schätzen des Lebensmittelverzehrs verringert die Genauigkeit im Vergleich zum Wiegen nur geringfügig und liefert im Gruppendurchschnitt eine zufriedenstellende Genauigkeit der Werte (Bingham 1991; Bingham et al. 1994). Die geschlossene Protokollform erleichtert die Datencodierung und die Dateneingabe für die Untersucher in einem erheblichen Umfang (Bingham et al. 1988).

Von einem 7-tägigen Protokollierungszeitraum wie in der Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie wurde abgesehen, um die Compliance der Teilnehmerinnen zu gewährleisten, die an allen drei Untersuchungsterminen teilnahmen und im Verlauf der Studie 3 Ernährungsprotokolle führten. Nach Meinung verschiedener Autoren sind bereits 3 Erhebungstage ausreichend, um die Nährstoffzufuhr valide zu erfassen (Basiotis et al. 1987; Bingham 1991). Das Ernährungsprotokoll wurde einheitlich von Sonntag bis Mittwoch geführt, um ein gleichbleibendes Verhältnis von Werktagen zu Wochenendtagen zu gewährleisten und Schwankungen in der Nährstoffaufnahme auszugleichen (Bingham 1991; Winkler et al. 1991).

Als Grundlage der Nährwertberechnungen dient der Bundeslebensmittelschlüssel BLS Version II.2 (BGVV 1996).

## 6.4 Erhebung der Nährstoffversorgung - Laboranalysen

Das Ernährungsprotokoll wurde jeweils von einer Blutentnahme begleitet, um die Entwicklung biochemisch-klinischer Parameter im Schwangerschaftsverlauf zu erfassen. Bestimmt wurden Parameter, mit deren Hilfe es möglich ist, den Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folsäurestatus zu charakterisieren. Die zum Eisenstatus analysierten Parameter dienen im Rahmen dieser Arbeit zur Erfassung von Wechselwirkungen auf andere Blutparameter. Weiterhin wurden Parameter zum Zink-, Kupfer- und Magnesiumstatus erhoben, auf die im folgenden nicht weiter eingegangen wird (Tab 6.2).

**Tab. 6.2: Biochemische Parameter des Folsäure- und Vitamin-B<sub>12</sub>-Status sowie weitere Parameter der vorliegenden Studie**

<p><b>Blutbild</b> Hämoglobin Hämatokrit Erythrozytenindizes (MCV, MCH, MCHC)</p> <p><b>Vitamin B<sub>12</sub></b> Vitamin B<sub>12</sub> (Serum) holo-Transcobalamin II (Serum) holo-Haptocorrin (Serum) apo-Transcobalamin II (Serum) apo-Haptocorrin (Serum) UBBC (Serum) TBBC (Serum) Vitamin B<sub>12</sub> (Erythrozyten)</p> <p><b>Folsäure</b> Folsäure (Plasma) Folsäure (Erythrozyten) Homocystein (Serum) Segmentierung der neutrophilen Granulozyten</p> <p><b>Vitamin B<sub>6</sub></b> Aktivität der erythrozytären Aspartat-Aminotransaminase (EAST)</p>	<p><b>Eisen</b> Eisen (Serum) Transferrin (Serum) Ferritin (Serum) Zinkprotoporphyrin (Erythrozyten)</p> <p><b>Zink</b> Zink (Serum) alkalische Phosphatase Zink in Kopfharen</p> <p><b>Kupfer</b> Kupfer (Serum) Coeruloplasmin</p> <p><b>Magnesium</b> Magnesium (Serum) Magnesium (Erythrozyten) Magnesium (Urin)</p> <p><b>Sonstiges</b> Albumin</p>
---	--

Gleichzeitig mit den Blutentnahmen wurden jeweils die Körpergröße, das Körpergewicht und der Blutdruck der Probandinnen erhoben sowie eine kurze Anamnese durchgeführt.

Um die festgesetzten Schwangerschaftswochen einhalten zu können, war es notwendig, die Untersuchungstermine mit jeder Probandin individuell zu vereinbaren. Sie fanden entweder im Institut für Ernährungswissenschaft mit anschließendem gemeinsamen Frühstück, bei den Frauen privat oder in der gynäkologischen Praxis statt. Diese Flexibilität war notwendig, um den Verlust von Teilnehmerinnen im Verlauf der Studie zu vermeiden.

Die Blutentnahmen fanden nüchtern statt (Nahrungskarenz = 12 h). Es wurden jeweils 31 ml Blut entnommen, davon 11 ml in Ethylendiamintetraacetylacetat (EDTA)-haltige Vacutainer und 20 ml in EDTA-freie Vacutainer. Das Blut wurde unmittelbar nach der Entnahme bei

4 - 7°C gekühlt und spätestens 2 Stunden nach der Blutentnahme zentrifugiert und im Anschluß aufbereitet.

Die meisten Analysen zum Status von Folsäure, Vitamin-B<sub>6</sub>, Eisen, Zink, Kupfer und Magnesium wurden im Zentrallabor des Universitätsklinikums unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Katz durchgeführt. Die Haaranalysen, die Messungen von Zinkprotoporphyrin sowie die Anfertigung der Blutausstriche und Zählung der Granulozyten-Segmentation wurden im Labor des Arbeitskreises von Prof. Dr. Leitzmann durchgeführt. Die Analysen zum Vitamin-B<sub>12</sub>-Status wurden im St. Mary's Hospital in London im hämatologischen Labor von Prof. Dr. Wickramasinghe sowie im Institute of Internal Medicine II der Erasmus Universität unter der Leitung von Dr. Lindemans in Rotterdam vorgenommen.

Für die Analysen von Vitamin B<sub>12</sub> im Erythrozyten wurde eine 20 %-ige Erythrozytenlösung nach der Methode von Tisman et al. [1993] hergestellt. Die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum und Erythrozyten wurden mit einem IMx Cobalamin Assay (Abbot Diagnostics Division, Maidenhead, Berks, England), der Mikropartikel mit vom Schwein gewonnenen Intrinsic-Faktor zur Bindung von Vitamin B<sub>12</sub> enthält.

Holo-Hap wurde aus dem Serum nach einer Modifikation der Methode von Das et al. [1991] entfernt, die bei Wickramasinghe and Fida [1993] beschrieben wird. Die holo-TC-II-Konzentrationen werden anschließend rechnerisch durch Subtraktion der holo-Hap-Konzentrationen vom Gesamtgehalt an Vitamin B<sub>12</sub> im Serum ermittelt (Tab. 6.2).

Die ungesättigte Vitamin-B<sub>12</sub>-Bindungskapazität UBBC sowie die einzelnen Transcobalamin-Fraktionen (apo-TC II und apo-TC I/III) wurden nach der Methode von Jacob und Herbert (1975) bestimmt. Die prozentualen Sättigungskapazitäten der einzelnen Proteinfractionen werden dann aus den in Tab. 6.3 aufgeführten Formeln errechnet.

Zur Folatbestimmung wurden die vom Plasma getrennten Erythrozyten mit einer 0.4-%igen Ascorbatlösung stabilisiert. Die Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten wurden mit Hilfe eines kompetitiven Protein-Bindungsassays (ACS<sup>TM</sup>-Folate Assay, Ciba Corning Diagnostics, Fernwald) und des automatisierten Ciba Corning Chemilumineszenz-Systems bestimmt.

Die HCY-Konzentrationen im Plasma wurden in Anlehnung an die Methode von Ubbink et al. (1993) gemessen, die eine Weiterentwicklung der Methode von Araki und Sako (1987) darstellt. Die Methode wurde leicht modifiziert, indem die Proben mit und ohne Zufügen einer standardisierten Menge an HCY gemessen wurden. Bei Abweichungen in den intraindividuellen Messungen von mehr als 10 % vom mittleren Abweichungsfaktor wurden die Ergebnisse verworfen und erneut gemessen.

Von jeder Blutprobe wurden 2 Blutausstriche auf gläsernen Objektträgern angefertigt und nach Pappenheim mit einer Kombination aus Giemsa- und May-Grünwald-Lösung eingefärbt (Tolle et al. 1966; Ruter und Gunzer 1984; Gulati und Hyun 1994). Die Ausstriche wurden dann lichtmikroskopisch mit Ölimmersion ausgewertet. Die Segmentation von jeweils 100 aufeinanderfolgenden neutrophilen Granulozyten wurde je zweimal von den unterschiedlichen Blutausstrichen jeder Probe gezählt und der Mittelwert errechnet (Bung et al. 1993). Intraindividuelle Ergebnisse, die um mehr als 20% voneinander abweichen, wurden insgesamt viermal gezählt. Von einer Unterteilung des Kerns wird dann gesprochen, wenn die Brücke zwischen 2 Kernsegmenten schmaler ist als die Hälfte der breitesten Stelle eines Segments (Edwin 1967).

Die Bestimmung von Hämoglobin (Hb), Haematokrit (Hk) und den Erythrozytenzahl wurden aus EDTA-Vollblut mit Hilfe des Blutzellenzählgerätes Coulter Counter (Coulter Electronics, Krefeld) durchgeführt. Die Erythrozytenindizes werden dann gemäß Tab. 6.3 berechnet.

**Tab. 6.3: Formeln zur Berechnung einiger Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folsäure-Parameter**

holo-TC II	= Serum-B <sub>12</sub> ./ holo-Hap
UBBC	= apo-TC II + apo-Hap
TBBC	= UBBC + Serum-B <sub>12</sub>
TBBC-%Sättigung	= [Serum-B <sub>12</sub> × 100] / TBBC
Hap-%Sättigung	= [holo-Hap × 100] / [Hap + holo-Hap]
TC II-%Sättigung	= [holo-TC II × 100] / [TC II + holo-TC II]
Segmentationsindex	= [Neutrophile mit 5 oder mehr Segmenten × 100] / [Neutrophils mit weniger als 5 Segmenten]
MCV (fL)	= Hk / Erythrozytenzahl (10 <sup>12</sup> /L)
MCH (fmol)	= [Hb (g/L) / Erythrozytenzahl (10 <sup>12</sup> /L)] × 0.06206
MCHC (mmol/L)	= [Hb (g/L) / Hk] × 0.06206
Transferrinsättigung (%)	= [Eisen (µmol/L) × 100] / [Transferrin (g/L) × 22,5]

Umrechnungsfaktoren für Vitamin B<sub>12</sub> (pg/mL → pmol/L) = × 0.7378 und Folsäure (ng/mL → nmol/L) = × 2.266.

Die quantitative Bestimmung von Ferritin im Serum erfolgte mit Hilfe des Enzymun-Test Ferritin (ELISA3) von Boehringer Mannheim GmbH. Transferrin wurde im Serum mit Hilfe des N-Antiserums gegen Humantransferrin für die Nephelometrie der Firma Behring gemessen. Die Transferrinsättigung wurde dann berechnet (Tab. 6.3). Die Konzentration von Zinkprotoporphyrin wurde als µmol Zinkprotoporphyrin pro mol Hämoglobin mit einem AVIV-Hämatofluorometer 206D in gewaschenen Erythrozyten gemessen. Die Messung wurde dreimal wiederholt und der Mittelwert berechnet.

## 6.5 Schwangerschaftstagebuch und Mutterpaß

Zur Erhebung des subjektiven Empfindens von **Beschwerden** in der Schwangerschaft wurde das **Schwangerschaftstagebuch** als neues Instrument entwickelt. Häufig auftretende Beschwerden, wie Übelkeit, Erbrechen, Müdigkeit und Wadenkrämpfe sind aufgeführt und können für jeden Tag angekreuzt werden. Weiterhin können die **Supplementen- und Medikamenteneinnahme** protokolliert und eventuell auftretende Heißhungergefühle notiert werden. Da die erste Blutentnahme in der 9.-12. Schwangerschaftswoche stattfand, wurde das Tagebuch zu Beginn retrospektiv geführt. Hierzu wurden die ersten 8 Schwangerschaftswochen nicht täglich, sondern wöchentlich erfragt, um eine Scheingenauigkeit zu vermeiden.

Zur Berechnung der durchschnittlichen Nährstoffzufuhr aus Supplementen wurde die Gesamtaufnahme aus Supplementen pro Nährstoff für jede Teilnehmerin einzeln in 3 Abschnitten addiert: vor der ersten Blutentnahme, zwischen der ersten und zweiten Blutentnahme sowie zwischen der zweiten und dritten Blutentnahme. Diese Menge wurde dann durch die Anzahl Tage, die dieser Abschnitt bei jeder einzelnen Studienteilnehmerin dauerte, geteilt. Die Häufigkeit der Beschwerden wurden ebenfalls für die obenstehenden Abschnitte zusammengefaßt.

Zusätzlich stehen die Daten aus dem Mutterpaß zur Verfügung. Diese Informationen hieraus wurden zur Validierung der im Fragebogen erhobenen Daten verwendet.

## 6.6 Statistische Methoden

Für die statistischen Auswertungen wurde das Programm SPSS® 9.0 (SPSS Software GmbH, München) verwendet.

Der Lebensmittelverzehr und die Nährstoffzufuhr wird aufgrund einer schiefen Verteilung als Median mit der 25. und 75. Perzentile (P25/P75) angegeben. Der Vergleich des Lebensmittelverzehrs und der Nährstoffzufuhr erfolgte mit Hilfe des U-Tests nach Mann-Whitney.

Die Normalverteilung der Daten wurde mit Hilfe der Prozedur Explore überprüft und verworfen, wenn der Test nach Kolmogorov-Smirnov (nach Lilefors-Signifikanz-Korrektur) auf signifikante Abweichungen von der Normalverteilung hinwies. Alle Daten werden als arithmetisches Mittel (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) dargestellt, sofern eine Normalverteilung der Daten gegeben war. Die Blutparameter zum Vitamin-B<sub>12</sub>-Status wurden aufgrund fehlender Normalverteilung einer log-Transformation unterzogen und werden als geometrisches Mittel (GM) mit geometrischer Standardabweichung (GM  $\pm$  geometrische SD)

angegeben. Die Grafiken geben stets Mean  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes (SEM) bzw. GM  $\pm$  geometrischen SEM wieder.

Zum Vergleich der verschiedenen Kostgruppen wurden Varianzanalysen mit der Prozedur Allgemeines Lineares Modell (General Linear Modell = GLM) durchgeführt. Da eine größere Fallzahl zu valideren Ergebnissen führt als eine kleine Fallzahl, wurden die Varianzanalysen für die Blutparameter mit allen Studienteilnehmerinnen berechnet, wobei durch die Berücksichtigung der Cobalamin- bzw. Folatzufuhr aus Supplementen und Multivitaminensäften als Confounder um diese Einflüsse korrigiert wurde. Zur Beurteilung der Bestimmungsfaktoren (B-Koeffizienten) einiger Blutparameter wurde im Anschluss an die Varianzanalyse eine Regressionsanalyse durchgeführt. Faktorvariablen wurden dazu in dichotome Dummy-Variablen zerlegt.

Da bekannt ist, daß die Folatkonzentrationen im Serum bei einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel steigen, wurde in verschiedene Modelle ein Wechselwirkungsterm aufgenommen, der in Anlehnung an Dagnelie et al. (1989) wie folgt berechnet wurde:

$$(x_{F(P)} - GM_{F(P)}) \times (x_{B_{12}(S)} - GM_{B_{12}(S)})$$

mit F(P) = Folatkonzentration im Plasma und B<sub>12</sub>(S)= Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentration im Serum  
und x = individueller Wert der jeweiligen Teilnehmerin

Da es für die meisten Blutparameter des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status keine etablierten Grenzwerte gibt und die nur teilweise vorhandenen Grenzwertvorschläge meist nicht der besonderen Situation der Schwangerschaft gerecht werden, wurden zur Grenzwertberechnung bei allen Vitamin-B<sub>12</sub>-Parametern die 5. Perzentile der Kontrollgruppe verwendet. Die Cobalaminzufuhr der Kontrollgruppe ist aufgrund der nationalen und internationalen Zufuhrempfehlungen als ausreichend bis sehr gut anzusehen (s. Kap. 8); ein zuzufuhrbedingter Mangel kann daher ausgeschlossen werden. Die ermittelten Grenzwerte des ersten Trimenons sind fast deckungsgleich mit den Grenzwert-Angaben anderer Studien für erwachsene Männer und Frauen (s. Kap. 5 und 8).

Referenzwerte für die Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten sowie die Homocysteinkonzentrationen wurden aus der Literatur übernommen, da die Kontrollgruppe aufgrund der unzureichenden Folatzufuhr nicht als Referenzgruppe geeignet ist (Tab. 6.4). Die Grenzwerte zur Beurteilung der Homocysteinkonzentrationen wurden aus dem bei Walker et al. (1999) angegebenen arithmetischen Mittel + 2 SD berechnet.

Tab. 6.4: Grenzwerte für die Beurteilung der Folatversorgung schwangerer Frauen

Parameter	Quelle	Trimenon	Grenzwert
<b>Erythrozyten-Folat (nmol/L)</b>			
mangelhaft	Bailey et al. 1980, IOM 1998	1.-3.	320
<b>Plasma-Folat (nmol/L)</b>			
mangelhaft	Bailey et al. 1988,	1.-3.	< 6.8
marginal	Huber et al. 1988,	1.-3.	6.8 - 13.6
akzeptabel	Caudill et al. 1997	1.-3.	> 13.6
<b>Homocystein (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>			
außerhalb Normalbereich	Walker et al. 1999	1.	> 7.3
außerhalb Normalbereich	Walker et al. 1999	2.	> 5.3
außerhalb Normalbereich	Walker et al. 1999	3.	> 7.5
<b>Segmentationsrate (Anzahl)</b>			
außerhalb Normalbereich	Hibbard und Hibbard 1971	1.-3.	3.0
<b>Segmentationsindex (%)</b>			
außerhalb Normalbereich	Stabler et al. 1990	1.-3.	5

Das relative Risiko eines Cobalamin- bzw. Folatmangels wurde anhand eines multinomialen log-linearen Modells (LOGIT) berechnet, das die Kostgruppe sowie das Trimenon der Schwangerschaft berücksichtigt. Absolute z-Werte über 1.96 werden dabei als signifikant auf dem Niveau einer 5%igen Irrtumswahrscheinlichkeit angesehen, z-Werte über 1.64 bedeuten eine 10%ige Irrtumswahrscheinlichkeit.

Häufigkeitsverteilungen bei der Erfüllung von Zufuhrempfehlungen wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests auf Unabhängigkeit geprüft. Zusammenhänge zwischen 2 intervallskalierten Variablen wurden mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Pearson ( $r_p$ ) berechnet.

Zur Ermittlung von Grenzwerten bei der Beurteilung der Nährstoffzufuhr wurde die Cobalaminzufuhr in Kategorien mit Schritten von je 0.5  $\mu\text{g}$  zerlegt. Die unterste Kategorie umfaßt alle Personen mit einer Zufuhr unter 1.5  $\mu\text{g/d}$ . Die Folatezufuhr wurde in Kategorien mit Schritten von je 50  $\mu\text{g}$ , beginnend bei einer Zufuhr von 150  $\mu\text{g/d}$  zerlegt. Aufgrund zu kleiner Fallzahlen war eine weitere Zerlegung unterhalb dieser Werte nicht möglich. Die gleiche Vorgehensweise wurde bei der Berechnung der logistischen Regressionsmodelle gewählt, die eine Beurteilung der Nährstoffzufuhr im Hinblick auf des relative Risiko (odds ratio) eines Nährstoffmangels erlauben. Angegeben wird immer das relativen Risikos sowie die untere und obere Grenze des 95%igen Vertrauensbereiches (CI-95%). Die angegebene Signifikanz entspricht der Irrtumswahrscheinlichkeit der Wald-Statistik.

Die Beurteilung der Einflüsse des Lebensmittelverzehr beruht auf der Höhe der prozentualen Varianz, die durch die jeweilige Lebensmittelgruppe erklärt wird. Sie wird als adjustiertes Bestimmtheitsmaß ( $R^2$  adj.), Veränderung der erklärten Varianz ( $R^2$ -Change) und Signifikanz der Steigerung des Bestimmtheitsmaßes durch die Aufnahme der jeweiligen Variable(n) in das Regressionsmodell (F-Statistik von  $R^2$ -Change) angegeben.

## 7 Allgemeine Beschreibung der Studienteilnehmerinnen

Bei Untersuchungs- und Kontrollgruppe bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Alters, der Parität und des Anteils an Raucherinnen sowie Erstgebärenden (Tab. 7.1). Die CG hatte einen signifikant höheren BMI als die VWK ( $p = 0.007$ ) und es wurden häufiger orale Kontrazeptiva (bezogen auf den Zeitraum eines Jahres vor Beginn der Schwangerschaft) eingenommen ( $p = 0.003$ ). Während der Schwangerschaft haben die VWK durchschnittlich  $12.8 \pm 4.1$  kg Körpergewicht zugenommen, die CG  $12.3 \pm 4.5$  kg. Die Gewichtszunahme unterschied sich nicht signifikant, die Gewichtsentwicklung verlief für beide Gruppen parallel (Abb. 7.1). Nahezu alle Teilnehmerinnen geben an, Sport zu treiben. Nach Berücksichtigung unterschiedlicher körperlicher Beanspruchung der praktizierten Sportarten betätigen die VWK sportlich intensiver ( $p=0,005$ ).

Tab. 7.1: Demographische Daten der Studienteilnehmerinnen

Variable	VWK		CG
	OLV	NVEG	
Alter <sup>1,2</sup> (J)	$31.0 \pm 4.7$	$30.4 \pm 4.2$	$29.4 \pm 4.1$
BMI <sup>1,2</sup> ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$20.6 \pm 2.1$	$21.5 \pm 2.1$	$23.1 \pm 4.5$
Gravidität <sup>1</sup> (Anzahl)	$1.7 \pm 0.8$	$1.6 \pm 0.8$	$2.0 \pm 1.2$
Erstgebärende (%)	53.3	54.3	41.9
Raucherinnen (%)	6.7	6.5	18.6
Einnahme oraler Kontrazeptiva <sup>3</sup> (%)	20.0	13.0	44.2

<sup>1</sup> Mean  $\pm$  SD

<sup>2</sup> zu Beginn der Schwangerschaft

<sup>3</sup> innerhalb eines Jahres vor Beginn der Schwangerschaft

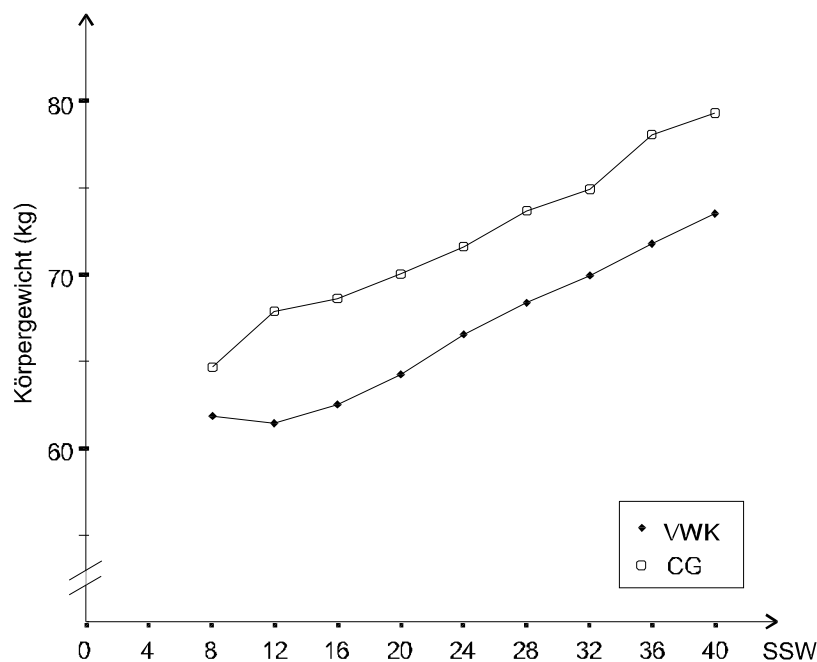


Abb. 7.1: Mittlere Gewichtsentwicklung der Studienteilnehmerinnen; Unterschiede nicht signifikant



Keine der Teilnehmerinnen war von einer **Erkrankung** betroffen, die Resorption oder Stoffwechsel der erhobenen Nährstoffe beeinflusst. Eine Probandin (CG) entwickelte im Verlauf der Erhebung Gestationsdiabetes.

Die Häufigkeit von Übelkeit und Erbrechen, die besonders im ersten Schwangerschaftsdrittel auftraten, unterschied sich nicht signifikant zwischen VWK und CG.

**Vollwert-Ernährung** wurde von den OLV durchschnittlich seit  $8.7 \pm 4.1$  Jahren, von den NVEG seit  $7.5 \pm 4.3$  Jahren praktiziert. Die meisten VWK, 76 % der OLV und 79 % der NVEG, nannten gesundheitliche Gründe als sehr wichtige **Motivation** zur Vollwert-Ernährung. An zweiter Stelle wurden ökologische Gründe mit 52 % (OLV) und 67 % (NVEG) mit sehr wichtig angegeben. Gleich darauf folgten geschmackliche Gründe mit 52 % (OLV) und 56 % (NVEG). Die OLV begründeten ihre Ernährungsweise signifikant häufiger mit ethischen Gründen als die NVEG ( $p < 0,0001$ ).

Der **Bildungsstand** des Untersuchungskollektives war im Vergleich zur Bevölkerung Deutschlands sehr hoch. Hier ist insbesondere der große Anteil von VWK mit Hochschulreife (71 %) und abgeschlossenem Hochschulstudium (33 %) zu nennen. Jeweils 57 % der VWK und der CG waren erwerbstätig. Das durchschnittliche Netto-Haushaltseinkommen betrug 3500 DM (2150 DM/4500 DM). Mit diesem Einkommen wurden durchschnittlich  $2,5 \pm 1,0$  Personen bei den VWK bzw.  $2,6 \pm 1,1$  Personen bei der CG versorgt. Gruppenunterschiede lagen nicht vor.

Während der Schwangerschaft haben die Studienteilnehmerinnen durchschnittlich  $11 \pm 1$  **Vorsorgeuntersuchungen** bei ihrem Gynäkologen oder ihrer Hebamme wahrgenommen. Die erste Vorsorgeuntersuchung lag in der  $9. \pm 1$  SSW. Die **Geburt** erfolgte bei allen Teilnehmerinnen durchschnittlich in der  $39. \pm 1$  SSW, meist durch eine Spontangeburt (OLV: 89 %, NVEG: 90 %, CG: 78%). Durch eine Sectio oder eine vaginale Operation wurden 11 % der OLV bzw. NVEG und 21.6 % der CG entbunden. Das **Geburtsgewicht der Neugeborenen** betrug bei den OLV  $3358 \pm 358$  g, bei den NVEG  $3399 \pm 565$  g und bei der CG  $3444 \pm 643$  g. Es gab bei allen aufgeführten Faktoren keine signifikanten Unterschiede zwischen Untersuchungs- und Kontrollgruppe.

Der **Eisenstatus** der Studienteilnehmerinnen ist anhand ausgewählter Parameter in Tab. 7.2 dargestellt; eine Trennung nach Einnahme von Eisensupplementen wurde hierzu nicht vorgenommen. Um eine Beeinflussung verschiedener hämatologischer Parameter durch

Unterschiede im Eisenstatus zu vermeiden, wird dieser bei einigen weiteren Auswertungen für die betreffenden Parameter berücksichtigt.

**Tab. 7.2: Ferritin- und Zinkprotoporphyrinwerte aller Studienteilnehmerinnen**

	Trimenon	VWK		CG
		OLV	NVEG	
<b>Ferritin (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>				
	1	21 ( 9-52)	28 (15-50)	15 (7-31)
	2	9 ( 5-18)	9 (18-42)	11 (4-28)
	3	22 (10-48)	23 (11-48)	9 (5-17)
<b>Zinkprotoporphyrin (<math>\mu\text{mol/mol Häm}</math>)</b>				
	1	26 (19-35)	26 (19-36)	27 (19-37)
	2	35 (21-56)	31 (19-50)	30 (17-52)
	3	26 (18-39)	23 (17-33)	32 (21-49)

Geometrisches Mittel (GM  $\pm$  geometrische SD)

## 8 Ergebnisse

### 8.1 Lebensmittelverzehr

Der Lebensmittelverzehr aller Studienteilnehmerinnen - berechnet als Durchschnitt während der gesamten Schwangerschaft - ist in Tab. 8.1 dargestellt. Im Schwangerschaftsverlauf stieg der Lebensmittelverzehr in allen Kostgruppen zwar tendenziell leicht an, die Unterschiede waren aber nicht signifikant.

**OLV und NVEG** zeigten ähnliche Verzehrsgewohnheiten beim Verzehr von Gemüse, Obst, Eiern und Milchprodukten. Beide Kostgruppen unterschieden sich hauptsächlich im Verzehr von Fleisch, Fisch und Produkten daraus. OLV zeigten aber auch einen niedrigeren Verzehr von Weißmehlprodukten und Süßigkeiten sowie einen höheren Verzehr von Nüssen, Samen und Hülsenfrüchten. Es bestand ebenfalls ein tendenzieller Unterschied im Verzehr unerhitzter Lebensmittel.

**VWK und CG** unterschieden sich in fast allen Lebensmittelgruppen signifikant. Sowohl der Verzehr von Gemüse und Hülsenfrüchten als auch der Verzehr von Obst lagen bei den VWK etwa um den Faktor 1.6 höher als bei der CG. Ihr Verzehr an rohen Lebensmitteln lag ebenfalls signifikant über dem der CG. Die CG verzehrte mehr Fleisch und Wurstwaren sowie Fisch und Meeresfrüchten und weniger Vollkornprodukte als die VWK. Sie nahmen darüber hinaus signifikant mehr Fertigprodukte, Süßigkeiten und alkoholische Getränke auf als die VWK. Die absolute Aufnahme von alkoholischen Getränken war bei beiden Gruppen sehr gering.

### 8.2 Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folsäurezufuhr

Bei den folgenden Auswertungen ist lediglich die Aufnahme von Vitamin B<sub>12</sub> bzw. Folsäure aus Lebensmitteln, nicht aber aus Supplementen berücksichtigt. Die Unterschiede im Lebensmittelverzehr der einzelnen Kostgruppen spiegelte sich in der Nährstoffzufuhr wieder (Tab. 8.2).

Tab. 8.1: Mittlerer Lebensmittelverzehr (Median und 25./75. Perzentile) der Studienteilnehmerinnen während der gesamten Schwangerschaft

Lebensmittelgruppe (g/d)	VWK				CG		Signifikanz <sup>1</sup>	
	OLV		NVEG		Median	P25/P75	OLV vs. NVEG	VWK vs. CG
	Median	P25/P75	Median	P25/P75				
Brot- und Backwaren								
aus Vollkorn	111	75/188	121	88/168	25	8/63	0,845	<0,0001
aus Auszugsmehl	35	5/ 91	58	30/93	148	99/214	0,032	<0,0001
Getreide und Nahrungsmittel								
aus Vollkorn	60	17/107	56	14/90	3	0/38	0,322	<0,0001
aus Auszugsmehl	0	0/ 37	4	0/45	48	9/89	0,221	<0,0001
Kartoffel(erzeugnisse)	56	30/113	90	45/135	83	45/145	0,077	0,509
Gemüse	314	198/412	296	222/380	189	125/259	0,795	<0,0001
unerhitzt	139	61/223	143	72/200	79	36/125	0,754	<0,0001
Obst	403	182/481	339	198/431	219	161/319	0,245	<0,0001
unerhitzt	359	166/481	297	180/405	188	125/284	0,131	<0,0001
Hülsenfrüchte und Sojaprodukte	13	0/38	3	0/38	0	0/16	0,024	0,001
Nüsse und Samen	11	1/21	3	0/11	0	0/4	0,008	<0,0001
Fleisch und Wurstwaren	0	0/0	38	3/62	115	87/165	<0,0001	<0,0001
Fisch und Meeresfrüchte	0	0/0	0	0/38	0	0/37	<0,0001	0,001
Eier	14	0/23	14	0/28	14	0/28	0,759	0,751
Milchprodukte	219	133/503	329	228/420	324	245/450	0,218	0,697
Süßungsmittel	3	0/6	3	0/ 6	2	0/6	0,764	0,741
Süßigkeiten	13	2/43	23	11/39	35	20/65	0,013	<0,0001
Gesamtverzehr ohne Getränke	1545	1286/1764	1551	1294/1782	1489	1268/1645	0,746	0,072
Verzehr roher Lebensmittel	563	304/730	450	271/607	294	207/421	0,056	<0,0001
Getränke, alkoholfrei	1413	988/1900	1569	1300/1900	1450	1225/1887	0,059	0,434
alkoholhaltig	0	0/0	0	0/0	0	0/13	0,322	0,001

<sup>1</sup> Mann-Whitney's U-Test

Tab. 8.2: Mittlere Cobalamin- und Folatezufuhr (Median und 25./75. Perzentile) der Studiengruppen als Gesamtnährstoffzufuhr und als Nährstoffdichte aus Lebensmitteln (ohne Zufuhr aus Supplementen)

Trimenon	VWK		CG	Signifikanz	
	OLV	NVEG		OLV vs. NVEG	VWK vs. CG
<b>Cobalamin (<math>\mu\text{g}/\text{d}</math>)</b>					
1	1.8 (1.0/3.0)	3.2 (2.0/4.1)	5.7 (4.0/6.1)	0.054	<0.0001
2	2.5 (1.8/3.6)	4.2 (3.3/5.3)	5.3 (4.8/6.6)	<0.0001	<0.0001
3	3.1 (1.4/4.2)	3.9 (3.2/5.2)	5.4 (4.2/6.2)	0.011	<0.0001
<b>Gesamt</b>	<b>2.5 (1.3/3.8)</b>	<b>3.8 (3.0/4.9)</b>	<b>5.3 (4.3/6.3)</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Cobalamin (<math>\mu\text{g}/10 \text{ MJ}</math>)</b>					
1	2.2 (1.5/4.5)	4.0 (2.6/4.9)	6.2 (4.8/7.4)	0.066	<0.0001
2	3.3 (2.0/4.2)	4.7 (3.9/5.5)	5.8 (4.5/7.3)	<0.0001	<0.0001
3	3.3 (1.3/4.6)	4.9 (3.9/5.6)	5.5 (4.4/6.8)	0.002	<0.0001
<b>Gesamt</b>	<b>3.3 (1.6/4.4)</b>	<b>4.7 (3.6/5.4)</b>	<b>5.7 (4.6/7.2)</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Gesamt-Folat (<math>\mu\text{g DFE}/\text{d}</math>)<sup>1</sup></b>					
1	347 (303/436)	374 (281/411)	315 (263/350)	0.526	0.110
2	379 (315/414)	348 (299/431)	324 (262/408)	0.499	0.055
3	361 (299/431)	340 (292/447)	324 (241/408)	0.849	0.063
<b>Gesamt</b>	<b>350 (308/426)</b>	<b>347 (294/444)</b>	<b>319 (258/394)</b>	<b>0.408</b>	<b>0.002</b>
<b>Gesamt-Folat (<math>\mu\text{g DFE}/10 \text{ MJ}</math>)<sup>1</sup></b>					
1	455 (405/565)	395 (352/493)	363 (314/435)	0.110	0.010
2	451 (376/505)	416 (336/475)	331 (281/405)	0.108	<0.0001
3	423 (365/484)	389 (351/489)	332 (289/398)	0.658	<0.0001
<b>Gesamt</b>	<b>448 (375/508)</b>	<b>396 (351/492)</b>	<b>338 (288/408)</b>	<b>0.034</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Freies Folat (<math>\mu\text{g FFE}/\text{d}</math>)<sup>2</sup></b>					
1	164 (152/218)	161 (130/208)	138 (117/156)	0.484	0.003
2	180 (157/208)	167 (146/200)	155 (119/183)	0.314	0.006
3	172 (144/209)	167 (144/212)	138 (115/169)	0.692	<0.0001
<b>Gesamt</b>	<b>173 (152/208)</b>	<b>166 (138/209)</b>	<b>140 (117/173)</b>	<b>0.257</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Freies Folat (<math>\mu\text{g FFE}/10 \text{ MJ}</math>)<sup>2</sup></b>					
1	226 (184/257)	200 (158/243)	153 (140/181)	0.161	<0.0001
2	235 (192/245)	192 (169/225)	151 (134/187)	0.010	<0.0001
3	203 (187/255)	191 (179/232)	146 (130/176)	0.404	<0.0001
<b>Gesamt</b>	<b>217 (192/246)</b>	<b>193 (168/229)</b>	<b>149 (134/181)</b>	<b>0.005</b>	<b>&lt;0.0001</b>

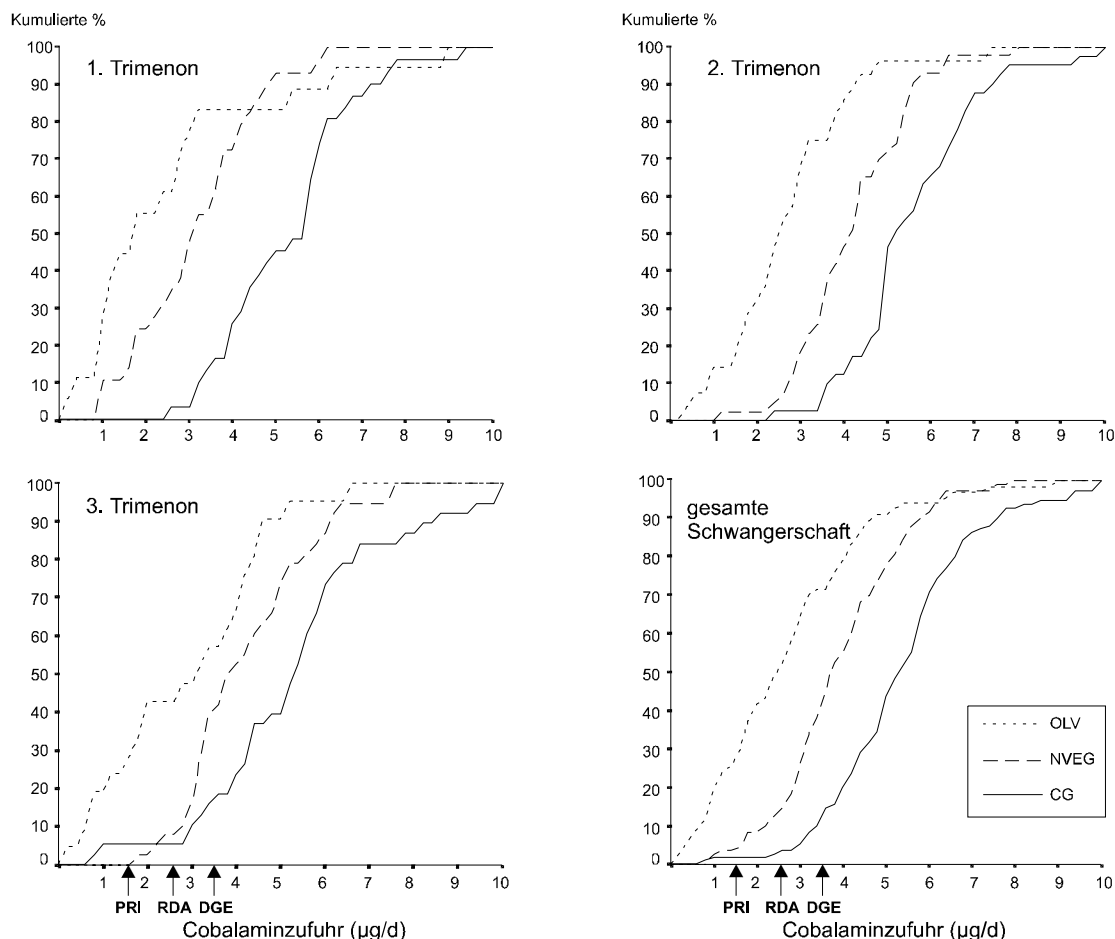
<sup>1</sup> DFE = dietary folate equivalent = Gesamtfolat

FFE = free folate equivalent = freies Folatäquivalent

Die Veränderungen der **Cobalaminzufuhr** im Schwangerschaftsverlauf waren in keiner Kostgruppe signifikant. Die Cobalaminzufuhr der VWK war auf die gesamte Schwangerschaft bezogen signifikant niedriger als die der CG, die Cobalaminzufuhr der OLV signifikant niedriger als die der NVEG ( $p < 0.001$ ). Dies traf sowohl auf die absolute Cobalaminzufuhr zu als auch auf die Nährstoffdichte zu. Die mittlere Cobalaminzufuhr der VEG liegt nur knapp über den europäischen Zufuhrempfehlungen PRI in Höhe von  $1.6 \mu\text{g}/\text{d}$ .

Die **Empfehlungen** für die Cobalaminzufuhr der DGE für schwangere Frauen (1991) in Höhe von  $3.5 \mu\text{g}/\text{d}$  erreichten im Durchschnitt über die gesamte Schwangerschaft 28 % der

OLV, 62 % der NVEG und 88 % der CG. Die Kostgruppen unterschieden sich darin signifikant in allen 3 Untersuchungszeitpunkten ( $p < 0.0001$ ). Die RDA (IOM 1998) in Höhe von  $2.6 \mu\text{g/d}$  wurden von 48 % der OLV, von 86 % der NVEG und von 96 % der CG erreicht, der EAR (IOM 1998) in Höhe von  $2.2 \mu\text{g/d}$  von 58 % der OLV, von 91 % der NVEG und von 97 % der CG. Die europäischen PRI (SCF 1993) in Höhe von  $1.6 \mu\text{g/d}$  wurden von 70 % der OLV, von 96 % der NVEG und von 98 % der CG erreicht (Abb. 8.1).



**Abb. 8.1:** Kumulierte Häufigkeitsverteilung der Cobalaminzufuhr aus Lebensmitteln (ohne Zufuhr aus Cobalaminsupplementen)

OLV, NVEG und CG unterscheiden sich nicht nur in der Menge der täglichen Cobalaminzufuhr. Auch die einzelnen Lebensmittelgruppen tragen zu einem unterschiedlichen Anteil zu der Cobalaminversorgung bei. Während in der CG Fleisch und Fisch die Hauptquellen sind, decken OLV und NVEG ihren Bedarf überwiegend durch Milch- und Milchprodukte. Auch bei den NVEG spielt der Anteil an Cobalamin aus Fleisch und Fisch nur eine untergeordnete Rolle (Abb. 8.2).

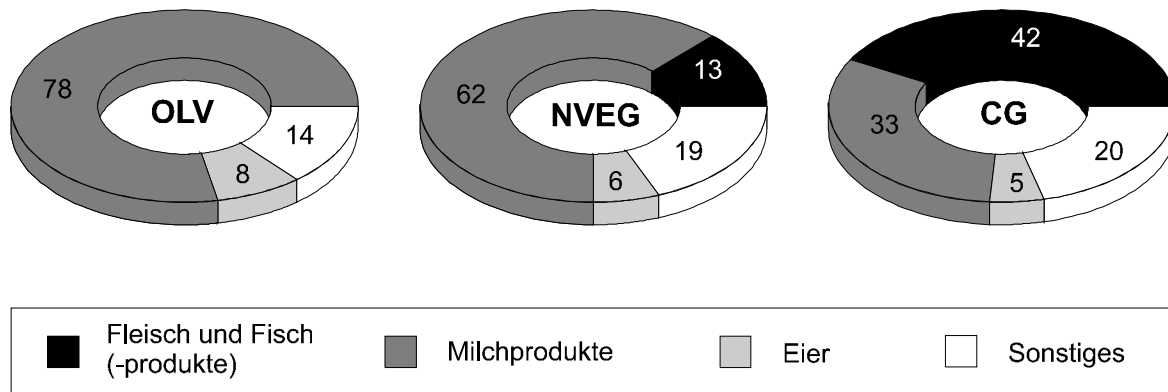


Abb. 8.2: Mittlere Anteile ausgewählter Lebensmittelgruppen an der Cobalaminversorgung (%)

Die Unterschiede in der **Folatzufuhr** der einzelnen Kostformen während der gesamten Schwangerschaft waren deutlicher bei der Berechnung von Folat als freie Folatäquivalente (FFE,  $p < 0.0001$ ) als bei der Berechnung als Gesamfolat (DFE,  $p = 0.022$ ). Die Folatzufuhr war bei den OLV am höchsten und bei der CG am niedrigsten (Abb. 8.3). Die Veränderungen der Folatzufuhr im Schwangerschaftsverlauf waren in keiner Kostgruppe signifikant, die Zufuhr blieb über alle Trimenen nahezu konstant.

Die Anteile einzelner Lebensmittel an der Folatversorgung von OLV, NVEG und CG unterscheiden sich nur geringfügig. Etwa 20 % der Folatzufuhr aller Kostgruppen stammt aus Brot, Backwaren und Getreide, aus Gemüse 19-25 %, aus Obst 12 %, aus Milchprodukten 11-16 % und aus Getränken 5-11 % (Abb. 8.4).

Die **Empfehlungen** der DGE (1991) zur Folatzufuhr für schwangere Frauen in Höhe von  $600 \mu\text{g DFE/d}$  erreichten im Durchschnitt über die gesamte Schwangerschaft 12 % der OLV, 10 % der NVEG und 5 % der CG. Die RDA (IOM 1998) sind mit diesen Empfehlungen identisch. Der EAR (IOM 1998) in Höhe von  $520 \mu\text{g/d}$  wurden von 25 % der OLV, von 20 % der NVEG und von 16 % der CG erreicht, die europäischen PRI (SCF 1993) in Höhe von  $400 \mu\text{g/d}$  von 34 % der OLV, von 36 % der NVEG und von 23 % der CG (Abb. 8.3).

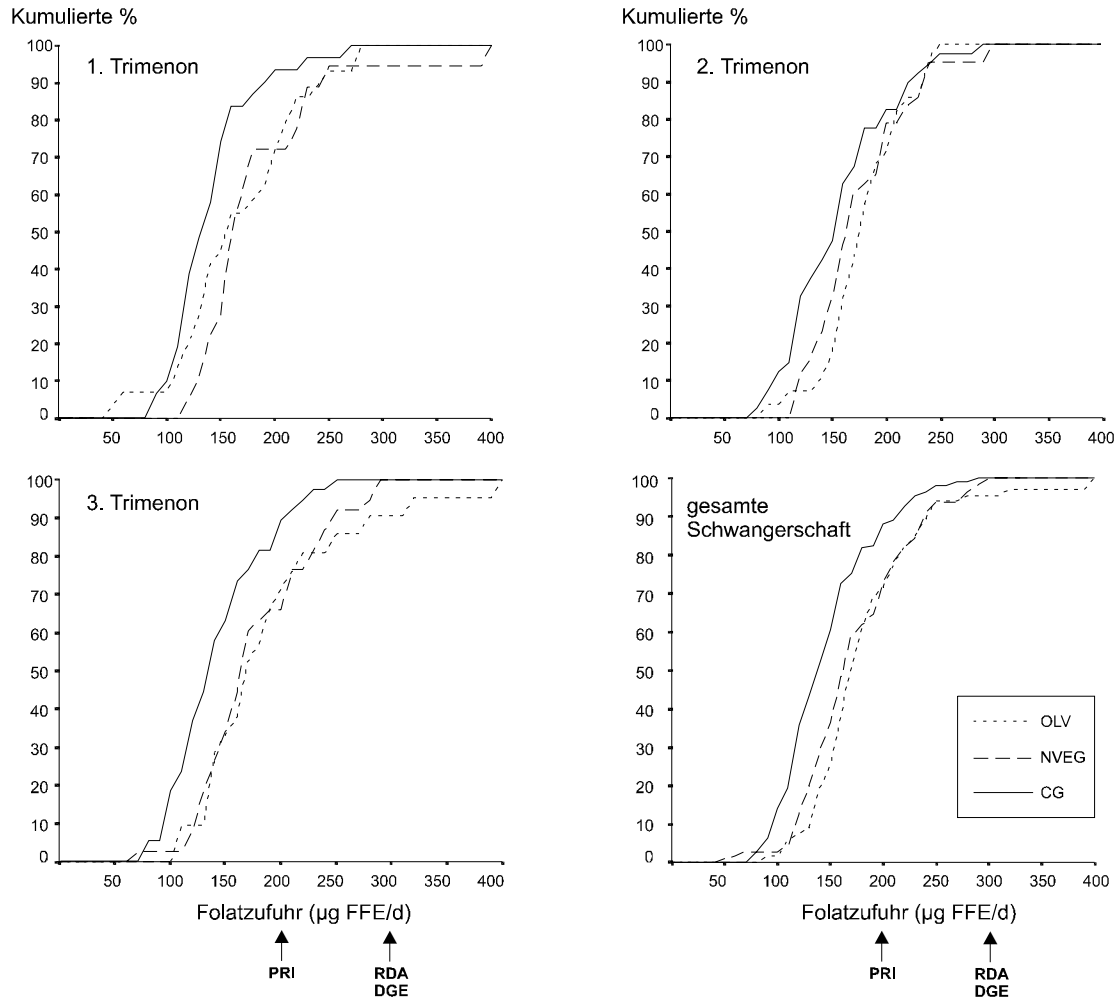


Abb. 8.3: Kumulierte Häufigkeitsverteilung der Folatzufuhr (berechnet als FFE) aus Lebensmitteln (ohne Zufuhr aus Folatsupplementen)

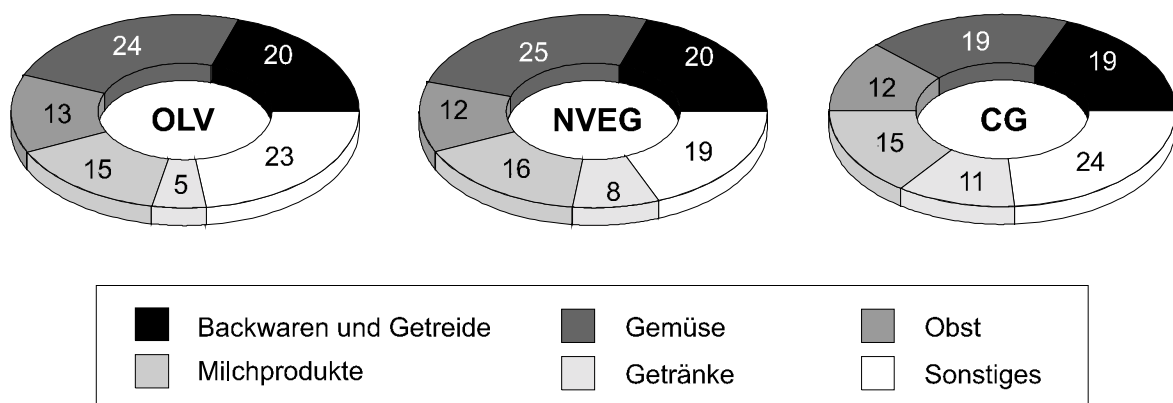


Abb. 8.4: Mittlere Anteile ausgewählter Lebensmittelgruppen an der Folatversorgung (%)



## 8.3 Hämatologische Parameter des Vitamin B<sub>12</sub>- und Folatstatus

Eine Übersicht aller hämatologischen Parameter von VWK und CG ist in Tab. 8.3 dargestellt. Auf die Parameter wird im folgenden einzeln eingegangen.

Die einzelnen Blutparameter werden im folgenden mit Hilfe von Varianzanalysen (GLM) auf Unterschiede zwischen den Kostgruppen untersucht. Obwohl sich VWK und CG hinsichtlich des BMI, sportlicher Aktivität und der Einnahme oraler Kontrazeptiva unterschieden (Kap. 7), wurde dies in die weiteren Auswertungen nicht aufgenommen, da keine Beeinflussung des Cobalamin- bzw. Folatstatus durch diese Faktoren festgestellt werden konnte. Auch die Anzahl der bisherigen Schwangerschaften und der Zeitraum über den eine Vollwert-Ernährung bzw. eine vegetarische Ernährung praktiziert wurde, zeigten keinen Einfluß auf die erhobenen Parameter und gehen somit in die weiteren Auswertungen nicht ein.

### 8.3.1 Vitamin-B<sub>12</sub>-Status

#### 8.3.1.1 Vitamin B<sub>12</sub> im Serum

Die mittleren Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum sind unterteilt in die einzelnen Vitamin-B<sub>12</sub>-Fraktionen in Abb. 8.5 dargestellt. Die VWK wiesen in allen Vitamin-B<sub>12</sub>-Fraktionen die niedrigsten Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum auf.

Die **Konzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> im Serum** sanken bei allen 3 Kostformen während der Schwangerschaft ab. Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen ( $p < 0.0001$ ). Die Varianzanalyse zeigte signifikante Unterschiede in den Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen zwischen VWK und CG ( $p < 0.0001$ ) und den einzelnen Trimenen der Schwangerschaft ( $p < 0.0001$ ). OLV und NVEG unterschieden sich ebenfalls signifikant ( $p < 0.0001$ ). Bei dieser Analyse, in die alle Studienteilnehmerinnen eingegangen sind, wurden die Einflüsse der Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr über Multivitaminsäfte ( $p = 0.037$ ) und über Supplemente ( $p < 0.023$ ) berücksichtigt. Sowohl der Verzehr von Multivitaminsäften als auch die Einnahme von Supplementen hatte einen erhöhenden Einfluß auf die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen. Eine Varianzanalyse, die nur diejenigen Studienteilnehmerinnen berücksichtigt, die keine Vitamin-B<sub>12</sub>-Supplemente eingenommen haben, führte zu gleichen Ergebnissen.

Tab. 8.3: Hämatologische Parameter der Studienteilnehmerinnen

Trimenon	VWK				CG	
	OLV		NVEG		Mean ± SD	n
	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n		
<b>Hämoglobin (g/L)<sup>1</sup></b>						
1	131 ± 8	12	131 ± 9	20	132 ± 9	20
2	122 ± 10	15	121 ± 7	28	126 ± 7	24
3	110 ± 8	11	121 ± 8	19	124 ± 6	18
<b>Hämatokrit<sup>1</sup></b>						
1	0.39 ± 0.02	12	0.39 ± 0.03	20	0.39 ± 0.03	20
2	0.36 ± 0.04	15	0.36 ± 0.02	28	0.37 ± 0.03	24
3	0.33 ± 0.03	11	0.36 ± 0.03	19	0.37 ± 0.02	18
<b>MCV (fL)<sup>1</sup></b>						
1	89 ± 3	12	88 ± 3	20	90 ± 4	20
2	91 ± 3	15	89 ± 4	28	92 ± 4	24
3	87 ± 7	11	86 ± 5	19	90 ± 4	18
<b>MCH (fmol)<sup>1</sup></b>						
1	1.9 ± 0.1	12	1.8 ± 0.1	20	1.9 ± 0.1	20
2	1.9 ± 0.1	15	1.8 ± 0.1	28	1.9 ± 0.1	24
3	1.8 ± 0.2	11	1.8 ± 0.1	19	1.9 ± 0.1	18
<b>MCHC (mmol/L)<sup>1</sup></b>						
1	21 ± 0	12	21 ± 1	20	21 ± 0	20
2	21 ± 1	15	21 ± 1	28	21 ± 1	24
3	20 ± 1	11	21 ± 1	19	21 ± 1	18
<b>Erythrotytenzahl (<math>\times 10^{12}/L</math>)<sup>1</sup></b>						
1	4.4 ± 0.3	12	4.4 ± 0.3	20	4.4 ± 0.5	20
2	4.0 ± 0.4	15	4.0 ± 0.3	28	4.1 ± 0.3	24
3	3.8 ± 0.4	11	4.2 ± 0.3	19	4.3 ± 0.9	18
<b>Erythrozyten-Vitamin B<sub>12</sub> (pmol/L)<sup>2,4</sup></b>						
1	207 (143-299)	13	188 (139-253)	22	220 (161-300)	28
2	214 (145-314)	17	212 (151-299)	31	245 (191-314)	31
3	274 (216-349)	14	260 (176-384)	21	257 (213-312)	25
<b>Serum-Vitamin B<sub>12</sub> (pmol/L)<sup>2,4</sup></b>						
1	166 ( 84-328)	13	219 (154-310)	25	248 (179-342)	28
2	171 (103-284)	19	204 (140-298)	33	228 (166-314)	32
3	128 ( 79-206)	14	164 (120-225)	22	172 (127-234)	27
<b>holo-TC II (pmol/L)<sup>2,4</sup></b>						
1	4 (0-26)	13	10 (2-52)	24	16 (4-62)	28
2	8 (2-38)	19	8 (2-36)	33	12 (3-57)	32
3	4 (1-22)	14	4 (1-16)	22	4 (1-19)	27
<b>holo-Hap (pmol/L)<sup>2,4</sup></b>						
1	156 (81-302)	13	196 (131-294)	24	223 (164-303)	28
2	156 (97-252)	19	189 (133-269)	33	206 (154-175)	32
3	115 (70-189)	14	157 (115-213)	22	162 (122-216)	27
<b>apo-TC II (pmol/L)<sup>2,4</sup></b>						
1	809 (625-1048)	13	686 (325-1446)	23	814 (659-1006)	27
2	867 (661-1137)	19	897 (733-1097)	33	860 (694-1067)	32
3	794 (591-1069)	15	926 (693-1238)	22	919 (752-1123)	28
<b>apo-Hap (pmol/L)<sup>2,4</sup></b>						
1	121 ( 87-168)	13	107 ( 65-175)	23	101 ( 57-180)	27
2	142 (100-201)	19	134 ( 83-216)	33	122 ( 77-195)	32
3	245 (176-340)	15	241 (168-346)	22	239 (168-339)	28

<sup>1</sup> Teilnehmerinnen haben weder Vitamin-B<sub>12</sub>- noch Folsäure-Supplemente eingenommen.<sup>2</sup> Teilnehmerinnen haben keine Vitamin-B<sub>12</sub>-Supplemente eingenommen.<sup>3</sup> Teilnehmerinnen haben keine Folsäure-Supplemente eingenommen.<sup>4</sup> GM (GM ± geometrische SD)

Fortsetzung Tab. 8.3		VWK				CG	
		OLV		NVEG		Mean ± SD	n
		Mean ± SD	n	Mean ± SD	n		
Trimenon							
<b>UBBC (pmol/L)</b> <sup>2,4</sup>							
1	936 (752-1166)	13	828 (492-1392)	23	926 (750-1142)	27	
2	1022 (814-1284)	19	1045 (864-1264)	33	993 (803-1227)	32	
3	1049 (799-1377)	15	1189 (927-1525)	22	1173 (980-1404)	28	
<b>TBBC (pmol/L)</b> <sup>2,4</sup>							
1	1144 (944-1387)	13	1072 ( 733-1567)	23	1196 (1041-1375)	27	
2	1216 (997-1483)	19	1267 (1082-1483)	33	1238 (1050-1461)	32	
3	1207 (944-1543)	14	1366 (1116-1673)	21	1353 (1169-1567)	27	
<b>TC II-Sättigung (%)</b> <sup>2,4</sup>							
1	0 (0-2)	13	1 (0-10)	23	1 (0-11)	28	
2	0 (0-5)	19	0 (0- 5)	33	1 (0- 9)	32	
3	0 (0-2)	14	0 (0- 2)	21	0 (0- 2)	27	
<b>Hap-Sättigung (%)</b> <sup>2,4</sup>							
1	54 (37-78)	13	63 (51-79)	23	67 (51-87)	27	
2	50 (36-69)	19	57 (48-69)	33	61 (48-77)	32	
3	31 (20-48)	14	37 (27-51)	21	40 (31-51)	27	
<b>TBBC-Sättigung (%)</b> <sup>2,4</sup>							
1	15 (8-26)	13	20 (13-30)	23	21 (14-30)	27	
2	14 (9-23)	19	16 (11-24)	33	18 (13-26)	32	
3	11 (7-17)	14	12 ( 8-18)	21	13 ( 9-18)	27	
<b>Erythrozyten-Folat (nmol/L)</b> <sup>3</sup>							
1	439 ± 164	13	389 ± 98	20	374 ± 107	20	
2	531 ± 180	17	467 ± 165	28	414 ± 126	24	
3	522 ± 92	12	443 ± 135	19	420 ± 170	18	
<b>Plasma-Folat (nmol/L)</b> <sup>3,4</sup>							
1	19.0 (12.6-28.5)	13	20.0 (15.4-26.1)	20	13.5 (10.3-17.8)	20	
2	16.8 (10.3-27.6)	17	14.1 (10.3-19.4)	28	13.9 ( 9.5-20.2)	24	
3	15.8 (10.6-23.6)	12	12.4 ( 9.6-15.9)	20	12.2 ( 8.0-18.7)	17	
<b>HCY (µmol/L)</b> <sup>1</sup>							
1	8.1 ± 2.5	12	7.8 ± 1.6	19	7.3 ± 2.0	19	
2	8.2 ± 2.9	15	7.0 ± 1.5	26	6.1 ± 1.6	23	
3	7.6 ± 3.0	11	7.8 ± 2.2	16	7.4 ± 1.9	17	
<b>Segmentationszahl (Count)</b> <sup>1</sup>							
1	2.8 ± 0.3	11	2.9 ± 0.2	16	2.9 ± 0.2	20	
2	3.0 ± 0.2	14	3.0 ± 0.2	26	3.0 ± 0.2	23	
3	3.0 ± 0.2	11	2.9 ± 0.2	18	3.2 ± 0.2	16	
<b>Segmentationsindex (%)</b> <sup>1</sup>							
1	2.1 ± 1.8	11	2.6 ± 1.8	16	2.0 ± 1.6	20	
2	1.8 ± 1.2	14	3.2 ± 2.5	26	2.7 ± 2.0	23	
3	1.9 ± 1.3	11	1.8 ± 1.3	18	2.6 ± 2.1	16	

<sup>1</sup> Teilnehmerinnen haben weder Vitamin-B<sub>12</sub>- noch Folsäure-Supplemente eingenommen.<sup>2</sup> Teilnehmerinnen haben keine Vitamin-B<sub>12</sub>-Supplemente eingenommen.<sup>3</sup> Teilnehmerinnen haben keine Folsäure-Supplemente eingenommen.<sup>4</sup> GM (GM ± geometrische SD)

Während die Konzentrationen an Transcobalamin II gebundenes Vitamin B<sub>12</sub> (**holo-TC II**) bei den NVEG ebenso wie bei der CG während der Schwangerschaft kontinuierlich absanken, war bei den OLV zwischen dem 1. und 2. Trimenon ein Anstieg zu erkennen, auf den dann ebenfalls ein Absinken folgte (Abb. 8.5). Der Abfall des holo-TC II vom 1. zum 3. Trimenon betrug bei NVEG und CG bis zu 70 %. Die Kostform hatte keinen Einfluß auf die Konzentrationen an holo-TC II im Serum ( $p = 0.485$ ); die Konzentrationen unterschieden sich zwischen den einzelnen Kostgruppen nicht signifikant (VWK vs. CG  $p = 0.340$ ; OLV vs. NVEG  $p = 0.465$ ). Dagegen zeigte die Varianzanalyse signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Trimenen der Schwangerschaft ( $p = 0.001$ ) und einen signifikanten, positiven Einfluß der Cobalaminmenge aus Supplementen ( $p = 0.004$ ) auf die Konzentrationen von holo-TC II. Der Einfluß der Cobalaminmenge aus Multivitaminensäften war dagegen nicht signifikant ( $p = 0.236$ ).

Die Haptocorrin-gebundenen Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen (**holo-Hap**) sanken kontinuierlich im Schwangerschaftsverlauf bei allen 3 Kostformen ab (Abb. 8.5). Sie waren am höchsten bei der CG, gefolgt von den NVEG und am niedrigsten bei den OLV. Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die holo-Hap-Konzentrationen ( $p = 0.002$ ). Die Varianzanalyse zeigte signifikante Unterschiede zwischen VWK und CG ( $p = 0.006$ ) und den einzelnen Trimenen der Schwangerschaft ( $p < 0.0001$ ). OLV und NVEG unterschieden sich ebenfalls signifikant ( $p = 0.024$ ). Der Einfluß der Cobalaminmenge aus Supplementen erwies sich ebenfalls als signifikant positiv ( $p = 0.001$ ), der Einfluß der Cobalaminmenge aus Multivitaminensäften dagegen nicht ( $p = 0.251$ ).

### **8.3.1.2 Vitamin B<sub>12</sub> im Erythrozyten**

Die mittleren Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten sind in Abb. 8.5 dargestellt. Sie stiegen bei den Studienteilnehmerinnen aller Kostgruppen im Schwangerschaftsverlauf signifikant an ( $p < 0.0001$ ). Die Kostform hatte keinen signifikanten Einfluß auf die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten ( $p = 0.108$ ). Die Unterschiede zwischen VWK und CG ( $p = 0.082$ ) sowie zwischen OLV und NVEG ( $p = 0.232$ ) waren ebenfalls nicht signifikant. Auch die Cobalaminzufuhr aus Supplementen ( $p = 0.120$ ) und Multivitaminensäften ( $p = 0.122$ ) zeigte keinen signifikanten Einfluß.

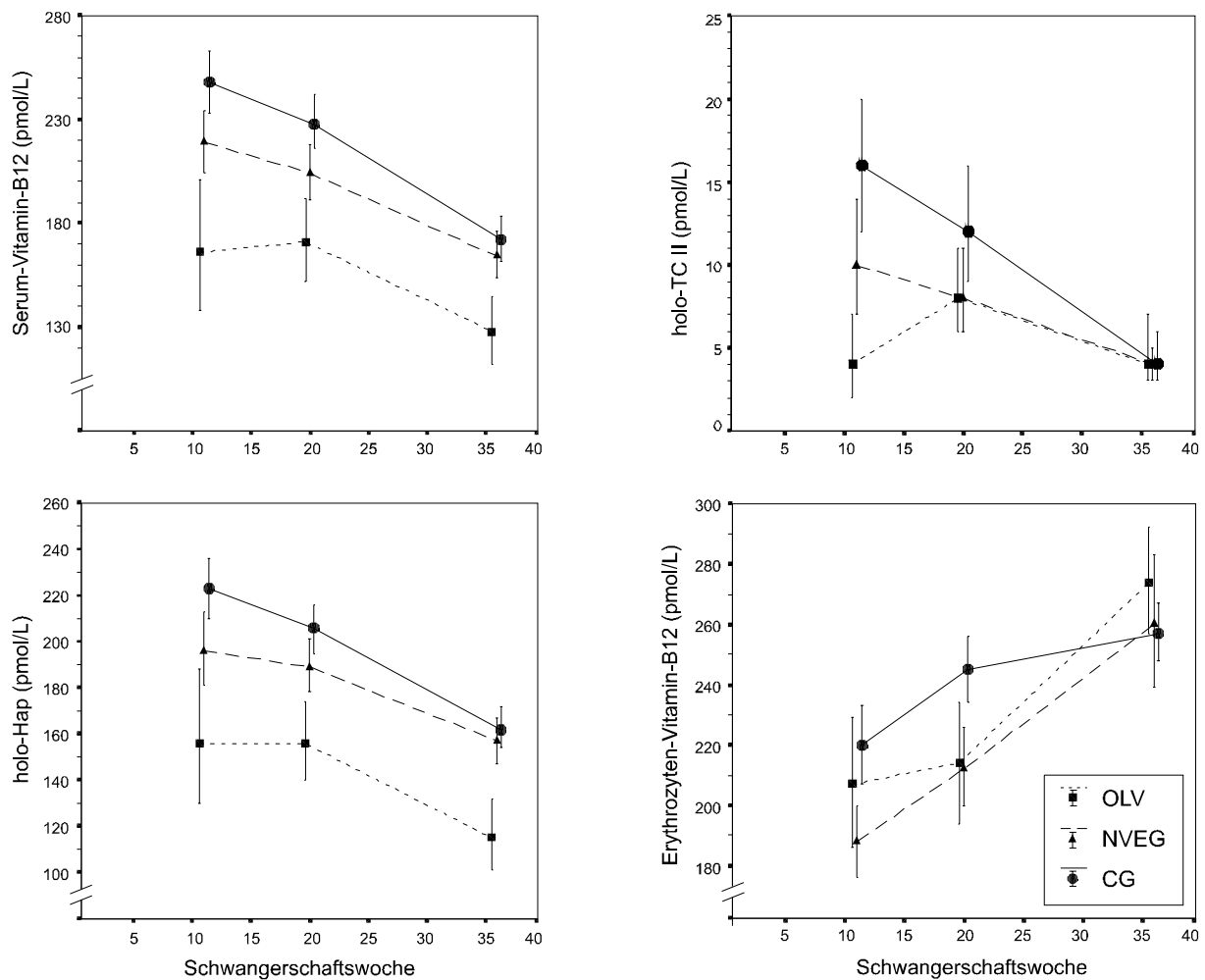


Abb. 8.5: Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen in Serum und Erythrozyten der nicht-supplementierten Studienteilnehmerinnen im Schwangerschaftsverlauf (GM ± geometrische SEM)

### 8.3.1.3 Transcobalamine

Die Gesamtmenge der nicht mit Vitamin B<sub>12</sub> gesättigten Transcobalamine (**UBBC**) stieg im Schwangerschaftsverlauf bei allen Kostgruppen signifikant an ( $p < 0.0001$ ). Die Kostform hatte keinen signifikanten Einfluß auf die UBBC ( $p = 0.868$ ). Die Unterschiede zwischen VWK und CG ( $p = 0.605$ ) sowie zwischen OLV und NVEG ( $p = 0.903$ ) waren nicht signifikant, ebenso wie die Einflüsse der Cobalaminzufuhr aus Supplementen ( $p = 0.598$ ) und Multivitaminensäften ( $p = 0.766$ ).

Die Konzentrationen an ungesättigtem Transcobalamin II (**apo-TC II**) verhielten sich nicht konform zwischen den einzelnen Kostgruppen (Abb. 8.6). Während bei der CG ein kontinuierlicher Anstieg zu beobachten war, stiegen die Konzentrationen bei den NVEG erst stark, dann leichter an; bei den OLV war nach einem Anstieg vom 1. zum 2. Trimenon ein Abfall zu verzeichnen. Eine Varianzanalyse zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Kostformen (Kostform  $p = 0.555$ ; VWK vs. CG  $p = 0.278$ , OLV vs. NVEG  $p = 0.948$ ) sowie den Trimena ( $p = 0.086$ ). Auch die Einflüsse der Cobalaminzufuhr

aus Supplementen ( $p = 0.271$ ) und Multivitaminensäften ( $p = 0.725$ ) erwies sich nicht als signifikant.

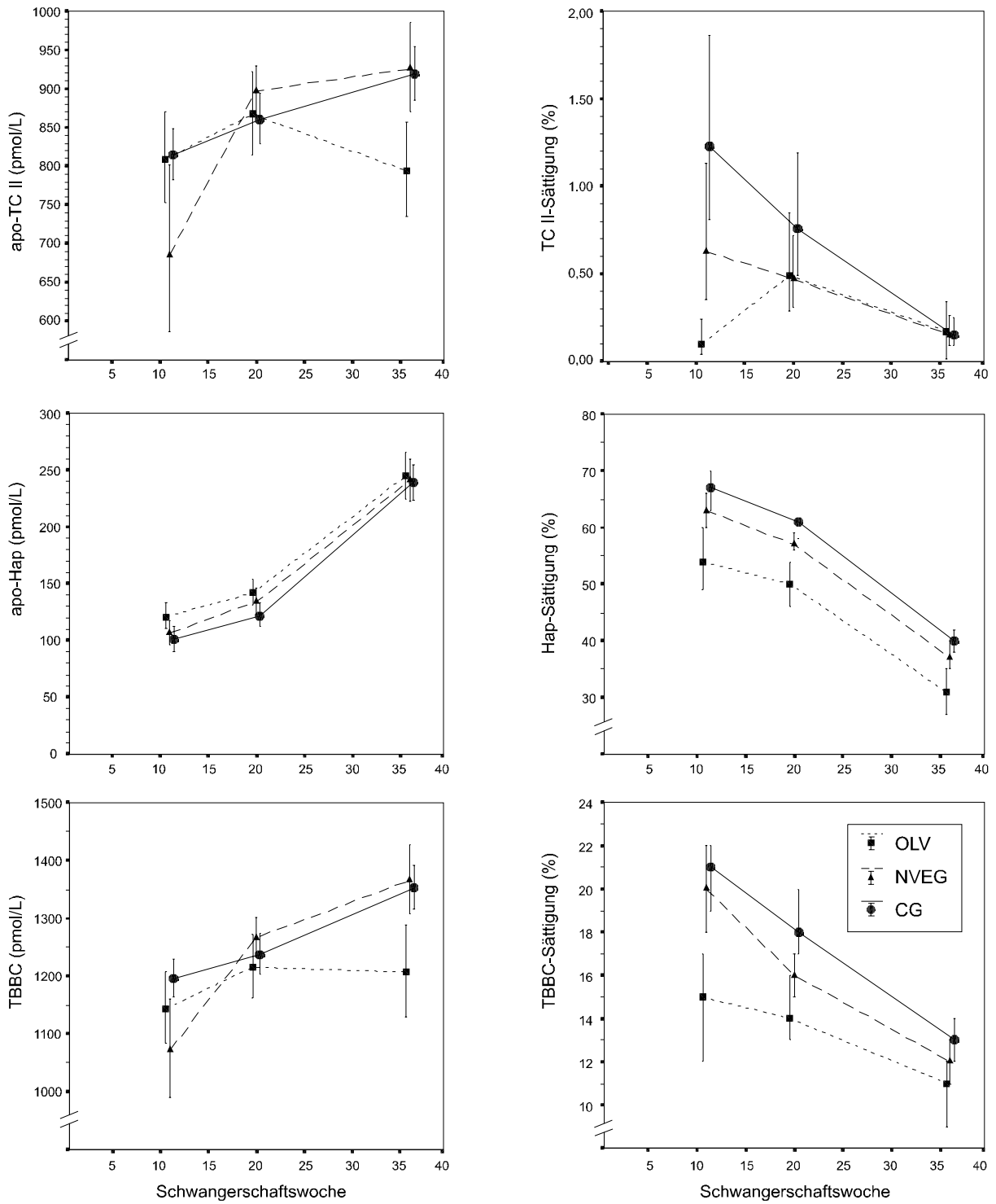
Die Konzentrationen an ungesättigtem Transcobalamin I und III (**apo-Hap**) stieg im Schwangerschaftsverlauf erst leicht, dann stärker an. Der Verlauf war bei allen Kostformen parallel, die OLV hatten durchschnittlich die höchsten Werte, gefolgt von den NVEG und der CG. Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die apo-Hap-Konzentrationen ( $p = 0.032$ ). Die Konzentrationen der VWK waren signifikant höher als die der CG ( $p = 0.044$ ), OLV und NVEG unterschieden sich nicht signifikant ( $p = 0.091$ ). Eine Varianzanalyse zeigte ebenfalls einen signifikanten Einfluß des Trimenons auf die apo-Hap-Konzentrationen ( $p < 0.0001$ ). Die Aufnahme von Cobalamin aus Supplementen hatte ebenfalls einen signifikanten, inversen Einfluß auf die apo-Hap-Konzentrationen ( $p = 0.003$ ), die Aufnahme von Cobalamin aus Multivitaminensäften zeigte keinen signifikanten Einfluß ( $p = 353$ ).

#### **8.3.1.4 Transcobalaminsättigung**

Die prozentuale Sättigung aller Transcobalamine (**TBBC-Sättigung**) fiel während der Schwangerschaft in allen Kostgruppen nahezu parallel und signifikant ab ( $p = 0.001$ ) (Abb. 8.6). Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die TBBC-Sättigung ( $p < 0.0001$ ). Die TBBC-Sättigung der OLV war in allen Trimenen niedriger als die der NVEG und der CG. VWK und CG ( $p = 0.002$ ) unterschieden sich ebenso wie NVEG und OLV ( $p = 0.006$ ). Die Aufnahme von Cobalamin aus Supplementen ( $p = 0.132$ ) und Multivitaminensäften ( $p = 0.082$ ) hatte keinen signifikanten Einfluß auf die prozentuale Sättigung.

Während die prozentuale **TC II-Sättigung** bei NVEG und CG im Schwangerschaftsverlauf wie die TBBC-Sättigung deutlich unter das Ausgangsniveau absanken, war bei den OLV zwischen dem 1. und 2. Trimenon ein leichter Anstieg zu beobachten. Nach dem 2. Trimenon sank die Sättigung dann ebenfalls ab, blieb jedoch über dem Ausgangsniveau im 1. Trimenon. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Trimenen erwiesen sich in einer Varianzanalyse als signifikant ( $p = 0.001$ ), nicht aber der Einfluß der Kostform ( $p = 0.336$ ) sowie der Einfluß der Cobalaminzufuhr aus Supplementen ( $p = 0.120$ ) und Multivitaminensäften ( $p = 0.150$ ).

Die prozentuale **Hap-Sättigung** fiel bei allen 3 Kostgruppen während der Schwangerschaft kontinuierlich ab. Der Abfall war am stärksten bei der CG, die auch das höchste Ausgangsniveau aufwies und am schwächsten bei den OLV, die das niedrigste Ausgangsniveau hatten. Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die prozentuale Hap-Sättigung ( $p < 0.0001$ ). VWK und CG unterschieden sich signifikant in der prozentualen Hap-Sättigung ( $p < 0.0001$ ), ebenso OLV und NVEG ( $p = 0.001$ ). Der Einfluß der Cobalaminzufuhr aus Supplementen erwies sich als signifikant ( $p < 0.0001$ ), nicht aber der Einfluß der Cobalaminzufuhr aus Multivitaminensäften ( $p = 0.983$ ).



**Abb. 8.6:** Ungesättigte Transcobalamin-Konzentrationen und der Anteil gesättigter Transcobalamine im Serum der nicht-supplementierten Studienteilnehmerinnen im Schwangerschaftsverlauf (GM  $\pm$  geometrische SEM)

### 8.3.1.5 Häufigkeit von Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel

Da bei der CG aufgrund der Cobalaminzufuhr von einer dauerhaften, adäquaten Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> ausgegangen werden kann und Grenzwerte für die meisten Parameter zur Bewertung des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status bisher nicht etabliert oder nicht für die besondere Situation der Schwangerschaft und die damit einhergehende Hämodilution angepasst sind, wurden als Grenzwert zur Beurteilung eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels die 5. Perzentile der CG jedes Trimenons herangezogen (s. Kap. 6). So können schwangerschaftsbedingte Einflüsse eliminiert werden und die Blutkonzentrationen vergleichbar gemacht werden. Bereits existierende Grenzwerte für erwachsene Männer und Frauen nach Herbert (1994, s. Kap. 5) sind in den meisten Fällen weitgehend mit den hier für das erste Trimenon ermittelten Grenzwerten identisch.

Der Vitamin-B<sub>12</sub>-Status der verschiedenen Kostgruppen unterschied sich nicht nur in den mittleren Blutkonzentrationen, es waren auch bei den VWK deutlich häufiger Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen außerhalb des Normalbereiches zu beobachten (Tab. 8.4).

**Tab. 8.4: Häufigkeit (%) von Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangelercheinungen<sup>1,2</sup> bei Studienteilnehmerinnen, die keine Vitamin-B<sub>12</sub>-Supplemente eingenommen haben**

Trimenon	Grenzwerte	VWK		CG
		OLV	NVEG	
<b>Erythrozyten-Vitamin-B<sub>12</sub></b>				
1	< 122 pmol/L	0	5	4
2	< 141 pmol/L	18	19	3
3	< 190 pmol/L	7	24	4
<b>Gesamt</b>		<b>9</b>	<b>16</b>	<b>4</b>
<b>Serum-Vitamin B<sub>12</sub></b>				
1	< 146 pmol/L	54	4	4
2	< 139 pmol/L	32	18	3
3	< 110 pmol/L	43	9	4
<b>Gesamt</b>		<b>41</b>	<b>11</b>	<b>3</b>
<b>holo-Hap</b>				
1	< 134 pmol/L	46	4	4
2	< 134 pmol/L	37	21	3
3	< 107 pmol/L	43	9	4
<b>Gesamt</b>		<b>41</b>	<b>13</b>	<b>3</b>
<b>Hap-Sättigung</b>				
1	< 40 %	15	0	4
2	< 35 %	16	0	0
3	< 25 %	36	10	4
<b>Gesamt</b>		<b>22</b>	<b>3</b>	<b>2</b>
<b>TBBC-Sättigung</b>				
1	< 11 %	39	0	7
2	< 9 %	16	6	6
3	< 8 %	36	24	7
<b>Gesamt</b>		<b>28</b>	<b>9</b>	<b>7</b>

<sup>1</sup> Mangel ist definiert als Wert unterhalb der 5. Perzentile der CG (alle Teilnehmerinnen mit und ohne Supplementeneinnahme)

<sup>2</sup> Grenzwerte von holo-TC II und TC II-Sättigung sind nicht aufgeführt, da die 5. Perzentile der CG bei 0 lag.



Wird die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum zur Beurteilung des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status herangezogen, zeigten 41 % der OLV, 11 % der NVEG und 3 % der CG im Schwangerschaftsverlauf Anzeichen eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels. Sowohl VWK und CG ( $p < 0.0001$ ) als auch OLV und NVEG ( $p < 0.0001$ ) unterscheiden sich signifikant in der Häufigkeit eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels. Holo-Hap-Konzentrationen außerhalb des Normalbereiches waren ebenfalls signifikant häufiger bei den VWK als bei der CG ( $p < 0.0001$ ) und bei den OLV häufiger als bei den NVEG ( $p < 0.0001$ ) zu beobachten. Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangelscheinungen anhand der Anteile der gesättigten Transcobalamine kamen auch bei der Hap-Sättigung (VWK vs. CG  $p = 0.029$ ; OLV vs. NVEG  $p = 0.001$ ) und bei der TBBC-Sättigung (VWK vs. CG  $p = 0.034$ ; OLV vs. NVEG  $p = 0.006$ ) am häufigsten bei den OLV, gefolgt von den NVEG und am seltensten bei der CG vor.

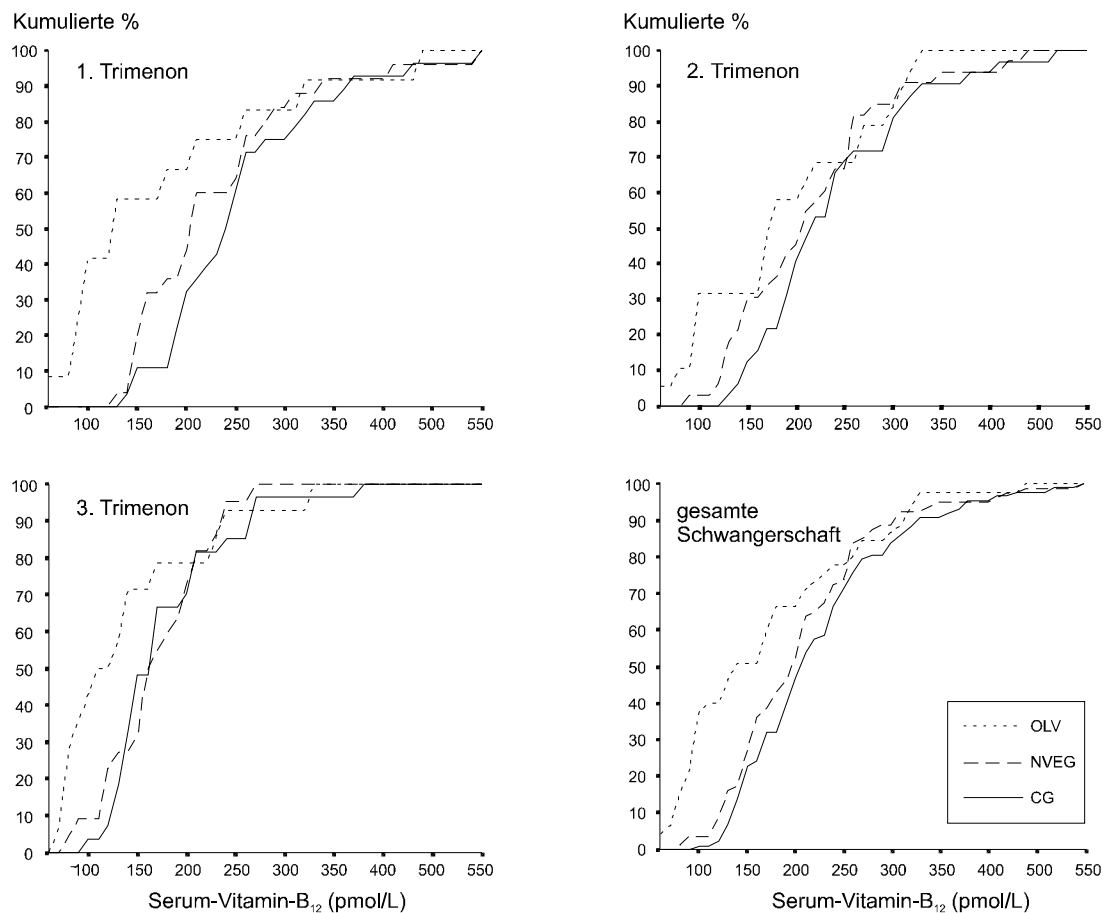
Aufgrund einer bestimmten **Kombination von Mangelscheinungen** ist nach Herbert (1994) eine Unterteilung in verschiedene Mangelstadien möglich. Nach Herberts Theorie sinken erst die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum ab. Ein Absinken der prozentualen Sättigung hält Herbert für ein Zeichen einer weiter fortgeschrittenen Depletion. Bisher ist aber nicht klar, ob dieses stufenweise Absinken auch auf die besondere Situation der Schwangerschaft übertragen werden kann.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten, daß eine **verringerte TBBC-Sättigung bzw. Hap-Sättigung** auch in der Schwangerschaft erst als fortgeschritteneres Stadium eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels eintritt. Von den Teilnehmerinnen mit einer TBBC-Sättigung unterhalb des Grenzwertes hatten 80.0 % ebenfalls verringerte Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen, aber nur 5.0 % der Teilnehmerinnen mit normalen TBBC-Sättigungswerten hatten verringerte Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen. Bei den Teilnehmerinnen mit einer Hap-Sättigung unterhalb des Normalbereiches hatten 88.2 % auch verringerte Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen, in 8.3 % der Fälle wurden normale Hap-Sättigungen bei verringerten Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen gemessen. Bei einer verringerten Hap-Sättigung lag in 82.4 % der Fälle auch bereits eine verringerte TBBC-Sättigung vor. Die Serum-Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen, die eine TBBC-Sättigung unterhalb des Grenzwertes hatten, lagen signifikant niedriger als die Serum-Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen, deren TBBC-Sättigung oberhalb des Grenzwertes lag ( $p = 0.001$ ).

Die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen, die eine TBBC-Sättigung und eine Hap-Sättigung unterhalb des Grenzwertes aufwiesen, wiederum lagen signifikant niedriger als die Serum-Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen, bei denen nur die TBBC-Sättigung unterhalb des Grenzwertes lagen ( $p = 0.003$ ). Die Serum-

Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen fallen also bevor eine Senkung der TBBC-Sättigung unter den Grenzwert eintritt, die TBBC-Sättigung fällt vor der Hap-Sättigung unter den Grenzwert.

Bei den Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen, dem etabliertester Parameter zur Einschätzung eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels war besonders im 1. Trimenon bereits ein deutlicher Unterschied der Konzentrationen der OLV gegenüber denen der NVEG und der CG zu beobachten. Die 50. Perzentile der OLV befand sich in einem Konzentrationsbereich, in dem kaum Studienteilnehmerinnen der NVEG und der CG anzutreffen waren. Dieser Unterschied wurde im Verlauf der Schwangerschaft geringer (Abb. 8.7).



**Abb. 8.7:** Kumulierte Konzentrationen an Serum-Vitamin-B<sub>12</sub> der nicht-supplementierten Studienteilnehmerinnen im Schwangerschaftsverlauf

Insgesamt zeigten während der gesamten Schwangerschaft 44 % der OLV, 16 % der NVEG und 8 % der CG Anzeichen eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels, definiert als mindestens einen Parameter des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status außerhalb des Referenzbereiches (VWK vs. CG  $p < 0.0001$ ; OLV vs. NVEG  $p = 0.001$ ).

Das Risiko (LOGIT) während der Schwangerschaft einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel zu entwickeln, war für die OLV 9.2 mal so hoch wie für die CG ( $z = 4.46$ ), für die NVEG 2.3 mal so hoch ( $z = 1.69$ ). Im 1. (0.5;  $z = -1.45$ ) und 2. (0.7;  $z = -0.83$ ) Trimenon lag das Risiko unabhängig von der Kostgruppe niedriger als im 3. Trimenon.

### 8.3.1.6 Zusammenhänge zwischen den Vitamin-B<sub>12</sub>-Parametern

Einzelne Zusammenhänge zwischen den Parametern des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status ergeben sich bereits aus der Berechnung, da es sich teilweise um Teilmengen einer Gesamtkonzentration handelt. Diese Zusammenhänge sollen hier im einzelnen nicht weiter erläutert werden.

Die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten sind signifikant positiv mit den apo-Hap-Konzentrationen und negativ mit den apo-TC-II-Konzentrationen und der prozentualen Hap-Sättigung korreliert (Tab. 8.5).

**Tab. 8.5:** Auszüge aus der Korrelationsmatrix<sup>1</sup> nach Pearson zwischen den einzelnen Vitamin-B<sub>12</sub>-Parametern<sup>2</sup> der nicht supplementierten Studienteilnehmerinnen im Schwangerschaftsverlauf

Parameter	Tri- menon	Erythrozyten- Vitamin-B <sub>12</sub>	Serum- Vitamin-B <sub>12</sub>	holo-TC II	holo-Hap
apo-TC II	1	- 0.182 ( 0.160)	+ 0.003 ( 0.982)		+ 0.118 ( 0.356)
	2	- 0.310 ( 0.006)	- 0.221 ( 0.043)	n.s. <sup>3</sup>	- 0.216 ( 0.048)
	3	- 0.264 ( 0.042)	- 0.200 ( 0.118)		- 0.189 ( 0.142)
apo-Hap	1	+ 0.225 ( 0.081)			
	2	+ 0.438 (< 0.0001)	n.s. <sup>3</sup>	n.s. <sup>3</sup>	n.s. <sup>3</sup>
	3	+ 0.332 ( 0.010)			
UBBC	1			- 0.140 ( 0.275)	
	2	n.s. <sup>3</sup>	n.s. <sup>3</sup>	- 0.234 ( 0.032)	n.s. <sup>3</sup>
	3			- 0.135 ( 0.295)	
TBBC	1		+ 0.290 ( 0.021)		+ 0.369 ( 0.003)
	2	n.s. <sup>3</sup>	+ 0.197 ( 0.073)	n.s. <sup>3</sup>	+ 0.201 ( 0.066)
	3		+ 0.057 ( 0.661)		+ 0.062 ( 0.631)
Hap-Sättigung	1	- 0.292 ( 0.022)	+ 0.627 (< 0.0001)	+ 0.207 ( 0.103)	+ 0.630 (< 0.0001)
	2	- 0.314 ( 0.005)	+ 0.665 (< 0.0001)	+ 0.387 (< 0.0001)	+ 0.646 (< 0.0001)
	3	- 0.256 ( 0.050)	+ 0.721 (< 0.0001)	+ 0.147 ( 0.254)	+ 0.741 (< 0.0001)
TC II-Sättigung	1		+ 0.421 ( 0.001)	+ 0.981 (< 0.0001)	
	2	n.s. <sup>3</sup>	+ 0.485 (< 0.0001)	+ 0.973 (< 0.0001)	+ 0.325 ( 0.003)
	3		+ 0.327 ( 0.010)	+ 0.979 (< 0.0001)	+ 0.126 ( 0.331)
TBBC-Sättigung	1		+ 0.826 (< 0.0001)	+ 0.451 (< 0.0001)	+ 0.746 (< 0.0001)
	2	n.s. <sup>3</sup>	+ 0.912 (< 0.0001)	+ 0.543 (< 0.0001)	+ 0.882 (< 0.0001)
	3		+ 0.878 (< 0.0001)	+ 0.319 ( 0.012)	+ 0.841 (< 0.0001)

<sup>1</sup> Angabe als Korrelationskoeffizient mit Irrtumswahrscheinlichkeit in Klammern:  $r_p(p)$

<sup>2</sup> berechnet mit den log-transformierten Variablen

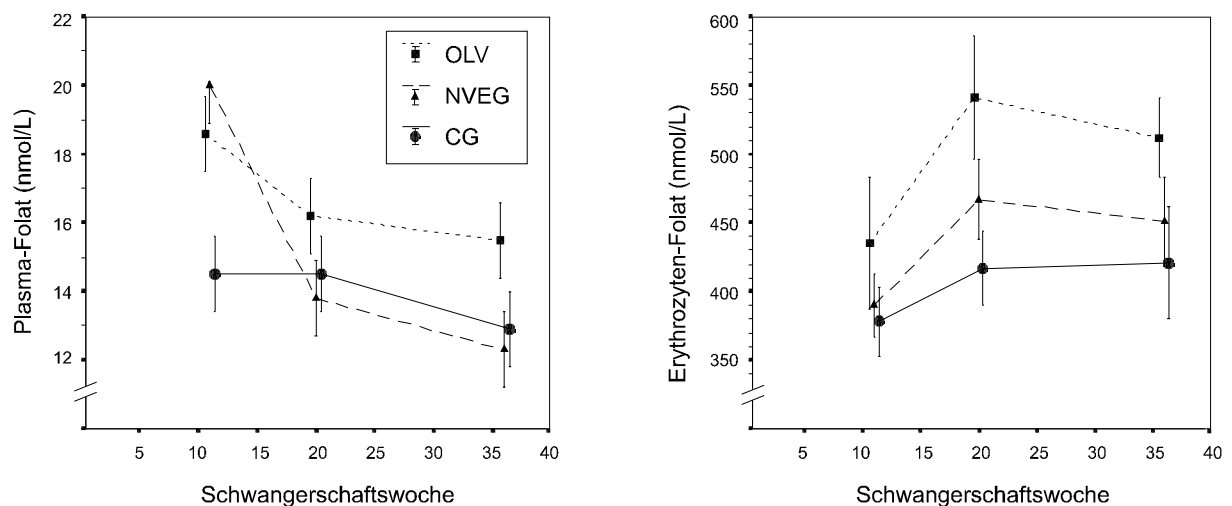
<sup>3</sup> die Korrelationskoeffizienten aller Trimena sind nicht signifikant

Es besteht ein inverser Zusammenhang zwischen den holo-TC-II-Konzentrationen und der UBBC sowie zwischen holo-Hap und apo-TC II. Ein marginaler inverser Zusammenhang ist zwischen den Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen und apoTC II, nicht aber zwischen Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen und apo-Hap zu erkennen. Die Zusammenhänge zwischen den gesättigten und den ungesättigten Vitamin-B<sub>12</sub>-Fraktionen sind zwar oft nur marginal, aber immer inverser Natur; das bedeutet, die ungesättigten Transcobalamine sind um so höher je niedriger die Menge an gebundenem Vitamin B<sub>12</sub> ist.

### 8.3.2 Folatstatus

#### 8.3.2.1 Folat im Plasma

Die mittleren Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten sind in Abb. 8.8 dargestellt. Die Plasma-Folatkonzentrationen sinken im Schwangerschaftsverlauf ab. Die VWK wiesen die höchsten Folatkonzentrationen im Plasma auf, die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die Plasma-Folatkonzentrationen ( $p = 0.008$ ). Die Varianzanalyse zeigt signifikante Unterschiede in den Plasma-Folatkonzentrationen zwischen VWK und CG ( $p = 0.004$ ) und den einzelnen Trimenen der Schwangerschaft ( $p = 0.001$ ). OLV und NVEG wiesen keine signifikanten Unterschiede auf ( $p = 0.318$ ). Bei dieser Analyse wurden die Einflüsse der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum ( $p = 0.002$ ) sowie der Folatzufuhr über Multivitaminensäften ( $p < 0.0001$ ) und Supplemente ( $p < 0.0001$ ) berücksichtigt.



**Abb. 8.8:** Folatkonzentrationen in Plasma (GM  $\pm$  geometrische SEM) und Erythrozyten (Mean  $\pm$  SEM) der nicht-supplementierten Studienteilnehmerinnen im Schwangerschaftsverlauf

#### 8.3.2.2 Folat im Erythrozyten

Die Folatkonzentrationen im Erythrozyten waren bei dem OLV am höchsten, gefolgt von den NVEG, und am niedrigsten bei der CG. Besonders zwischen dem 1. und 2. Trimenon war ein Anstieg der Konzentrationen in allen Kostgruppen zu beobachten, der bei den OLV am stärksten war (Abb. 8.8). Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die Folatkonzentrationen im Erythrozyten ( $p = 0.009$ ). Die Varianzanalyse zeigte signifikante Unterschiede zwischen VWK und CG ( $p = 0.042$ ) sowie zwischen OLV und NVEG ( $p = 0.021$ ) und den einzelnen Trimenen der Schwangerschaft ( $p = 0.007$ ). Auch hier wurden die Einflüsse der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum ( $p < 0.0001$ ) sowie der Folatzufuhr über Multivitaminensäften ( $p = 0.002$ ) und Supplemente ( $p = 0.002$ ) berücksichtigt. Andere Einflußgrößen, die in der Literatur diskutiert werden, wie die Zink- und Ferritinkonzentrationen,

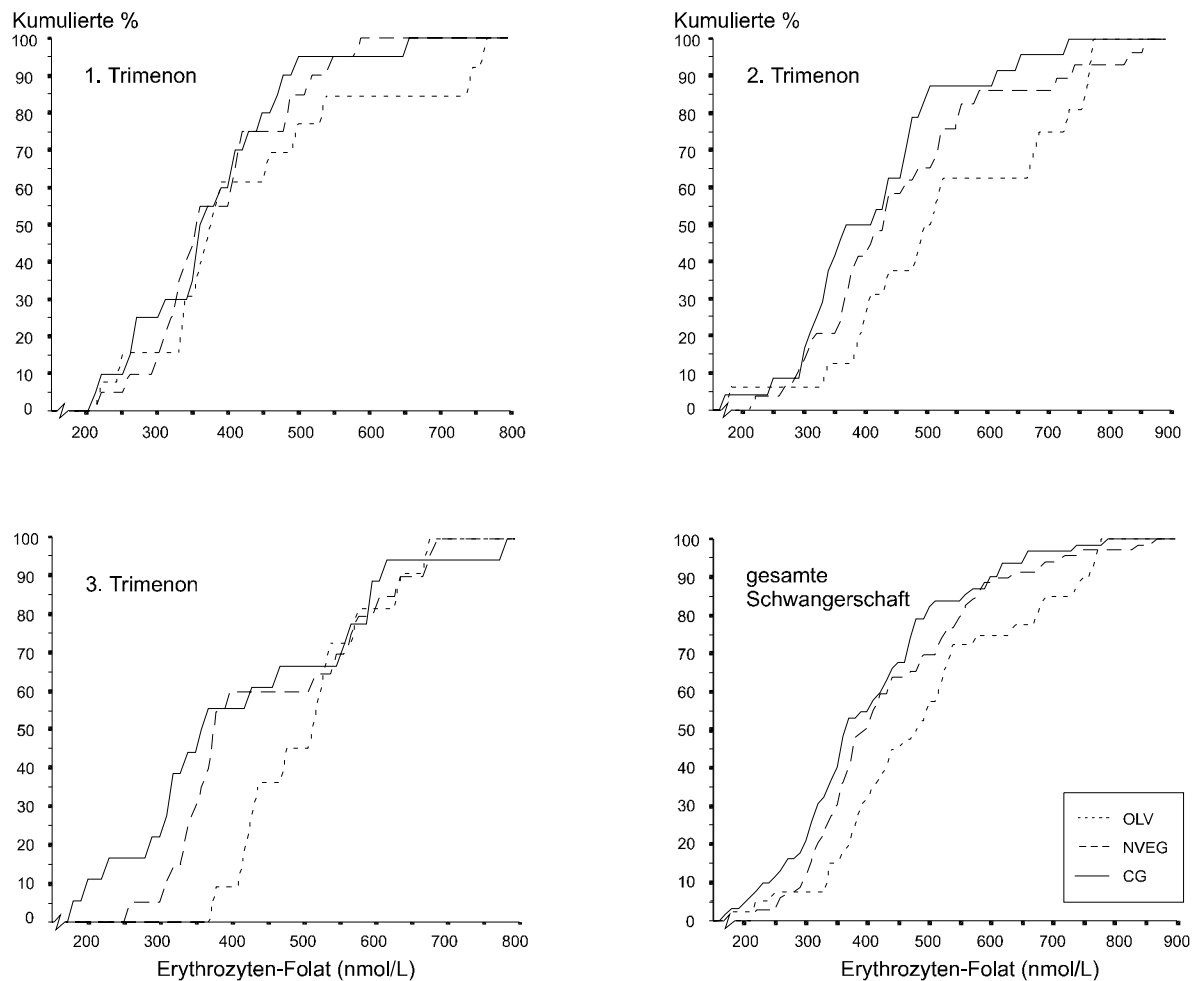
trationen im Serum zeigten keinen signifikanten Einfluß auf die Folatkonzentrationen im Erythrozyten (Brown et al. 1997).

In allen Kostgruppen stiegen die Folatkonzentrationen im Erythrozyten nach dem 1. Trimenon signifikant an. Der Anstieg zwischen dem 1. und 2. Trimenon korrelierte positiv mit dem Auftreten von Übelkeit und Erbrechen im 1. Trimenon der Schwangerschaft ( $r = 0.440$ ;  $p < 0.0001$ ). Die Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten sind ebenfalls signifikant positiv miteinander korreliert ( $r = 0.467$ ;  $p < 0.0001$ ).

### **8.3.2.3 Häufigkeit von Folatmangel**

Das Auftreten eines Folatmangels - definiert als Erythrozyten-Folatkonzentration unter 320 nmol/L - war im gesamten Schwangerschaftsverlauf bei den VWK seltener (15.6 %) als bei der CG (29.0 %;  $p = 0.030$ ); von den OLV zeigten 7.5 %, von den NVEG 20.3 % Zeichen eines Folatmangels. Die kumulierten Folatkonzentrationen im Erythrozyten sind in Abb. 8.9 dargestellt. Im 1. Trimenon wurde ein Folatmangel bei 15.4 % der OLV, bei 25.0 % der NVEG und bei 30.0 % der CG beobachtet; im 2. Trimenon bei 6.3 % der OLV, bei 20.7 % der NVEG und bei 25.0 % der CG und im 3. Trimenon bei keiner der OLV, bei 15.0 % der NVEG und bei 33.3 % der CG. Das Risiko eines Folatmangels war im gesamten Verlauf der Schwangerschaft für OLV (0.20;  $z = -2.45$ ) und NVEG (0.63;  $z = -1.13$ ) niedriger als für die CG. Das Risiko zwischen den einzelnen Trimena der Schwangerschaft unterschied sich nicht signifikant (1. Trimenon: 1.49;  $z = 0.79$ ; 2. Trimenon: 1.05,  $z = 0.10$ ; das 3. Trimenon wurde als Referenz eingesetzt).

Plasma-Folatkonzentrationen unter 6.8 nmol/L, die ebenfalls ein Hinweis auf einen Folatmangel sein können, kamen bei den Studienteilnehmerinnen nicht vor. Eine marginale Versorgung mit Konzentrationen von 6.8 - 13.6 nmol/L wurden bei 28.6 % der OLV (1. Trimenon: 30.8; 2. Trimenon: 23.5; 3. Trimenon: 33.3), bei 41.2 % der NVEG (1. Trimenon: 5.0; 2. Trimenon: 50.0; 3. Trimenon: 65.0) und bei 51.7 % der CG (1. Trimenon: 47.4; 2. Trimenon: 50.0; 3. Trimenon: 58.8) beobachtet ( $p = 0.056$ ).



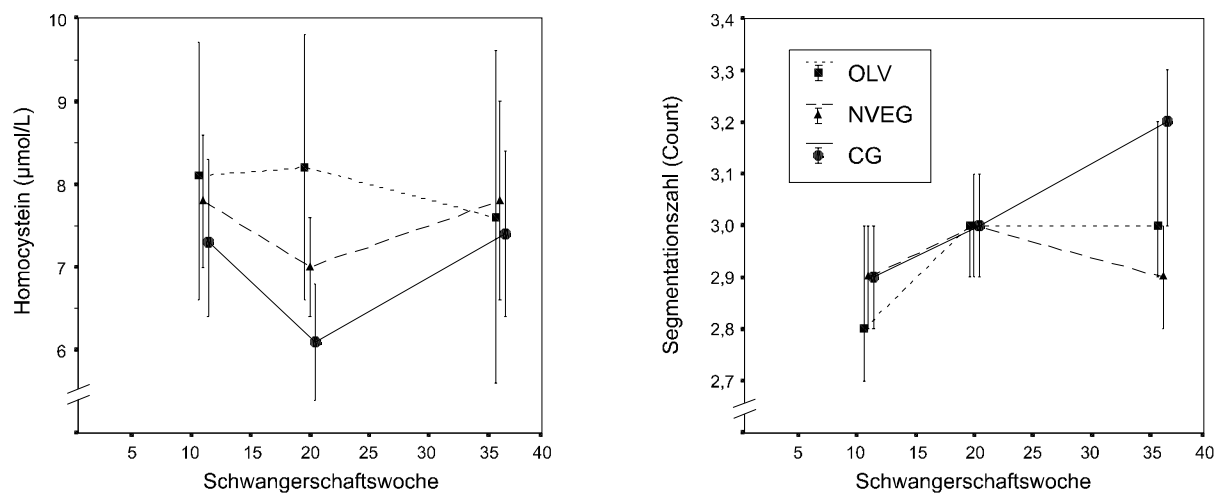
**Abb. 8.9:** Kumulierte Häufigkeitsverteilung der Folatkonzentrationen im Erythrozyten der nicht-supplementierten Studienteilnehmerinnen

### 8.3.3 Homocystein und Segmentation neutrophiler Granulozyten

Die mittleren **Homocystein**konzentrationen im Plasma sind in Abb. 8.10 dargestellt. Wie auch in anderen Studien beobachtet wurde, sanken die Homocysteinkonzentrationen erst ab, um dann wieder nach dem 2. Trimenon anzusteigen. Nur bei den OLV war kein Abfall der Homocysteinkonzentrationen nach dem 1. Trimenon zu beobachten. Die OLV wiesen auch die höchsten Homocysteinkonzentrationen auf. Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die Homocysteinkonzentrationen ( $p = 0.011$ ). Die Varianzanalyse zeigt signifikante Unterschiede zwischen VWK und CG ( $p = 0.005$ ) und den einzelnen Trimena der Schwangerschaft ( $p = 0.013$ ). OLV und NVEG wiesen keine signifikanten Unterschiede auf ( $p = 0.288$ ). Bei dieser Analyse, in die alle Studienteilnehmerinnen eingegangen sind, wurden die Einflüsse der Cobalaminzufuhr ( $p = 0.069$ ) sowie der Folatzufuhr über

Supplemente ( $p = 0.007$ ) berücksichtigt. Multivitaminsäfte zeigten keine signifikanten Einfluß.

Homocystein-Konzentrationen außerhalb des Normalbereiches (1. Trimenon: 8.8; 2. Trimenon: 6.3; 3. Trimenon: 10.2  $\mu\text{mol/L}$ ) wurden bei 39.4 % der VWK und 20.3 % der CG beobachtet ( $p = 0.013$ ) (Abb. 8.11). Am häufigsten kamen solche Werte bei den OLV mit 47.4 % während der gesamten Schwangerschaft vor gegenüber 34.4 % bei den NVEG ( $p = 0.200$ ) (Tab. 8.6). Das Risiko (LOGIT) während der Schwangerschaft für Homocysteinwerte oberhalb des Normalbereiches war für die OLV 4.6 mal so hoch wie für die CG ( $z = 2.95$ ), für die NVEG 2.2 mal so hoch ( $z = 1.68$ ). Im 1. (1.8;  $z = 2.10$ ) und 2. (1.8;  $z = 4.28$ ) Trimenon lag das Risiko unabhängig von der Kostgruppe signifikant höher als im 3. Trimenon.



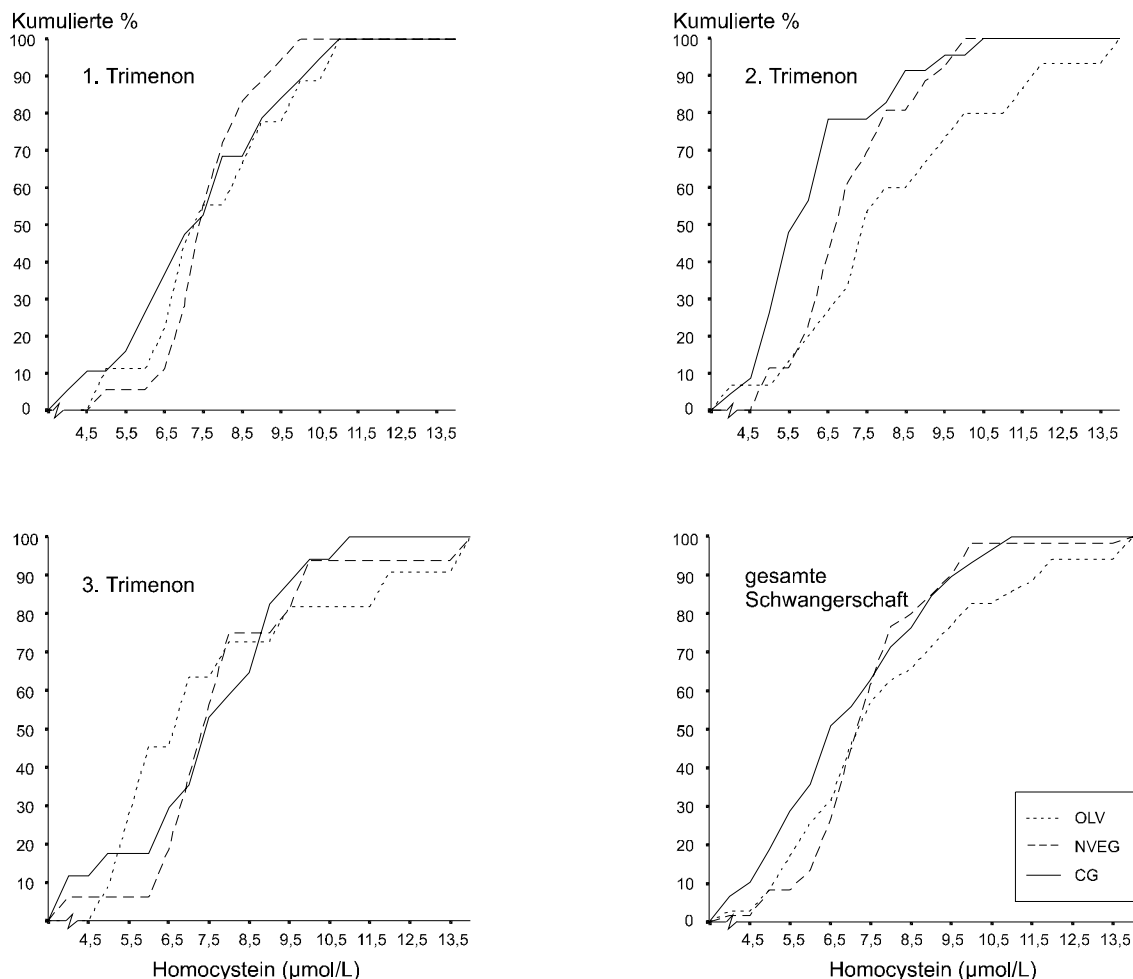
**Abb. 8.10: Homocysteinkonzentrationen im Plasma und durchschnittliche Segmentierung der neutrophilen Granulozyten der nicht-supplementierten Studienteilnehmerinnen im Schwangerschaftsverlauf (Mean  $\pm$  SEM)**

Die mittlere **Segmentation der neutrophilen Granulozyten** (Segmentationszahl) lag am höchsten bei der CG, gefolgt von den NVEG und am niedrigsten bei den OLV (Abb. 8.10). Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die Segmentationszahlen ( $p < 0.0001$ ). Die Ergebnisse einer Varianzanalyse zeigten signifikante Unterschiede zwischen VWK und CG ( $p < 0.0001$ ), OLV und NVEG unterschieden sich dagegen nicht signifikant ( $p = 0.877$ ). Die Segmentationsrate steigt im Schwangerschaftsverlauf an. Die einzelnen Trimena unterscheiden sich dabei signifikant ( $p < 0.0001$ ). Es konnten weder für die Cobalamin- noch für die Folatzufuhr über Multivitaminsäfte und Supplemente Einflüsse auf die Segmentationsrate nachgewiesen werden.

Segmentationszahlen über 3.0 zeigten im gesamten Schwangerschaftsverlauf 33.3 % der OLV, 26.7 % der NVEG und 40.7 % der CG ( $p = 0.270$ ). Signifikante Unterschiede zwischen den Kostgruppen waren nur im 3. Trimenon zu erkennen. Hier lagen bei 54.5 % der OLV,

bei 16.7 % der NVEG und bei 75 % der CG die Segmentationszahlen über dem Grenzwert (VWK vs. CG  $p = 0.006$ ; OLV vs. NVEG  $p = 0.002$ ) (Tab. 8.6). Das Risiko (LOGIT) erhöhter Segmentationszahlen unterschied sich im Schwangerschaftsdurchschnitt jedoch nicht signifikant innerhalb der Kostgruppen.

Der **Segmentationsindex** der neutrophilen Granulozyten lag wie die Segmentationszahl am höchsten bei der CG, gefolgt von den NVEG und am niedrigsten bei den OLV. Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf den Segmentationsindex ( $p = 0.041$ ). Die VWK unterschieden sich signifikant von der CG ( $p = 0.045$ ), die Unterschiede zwischen OLV und NVEG waren nicht signifikant ( $p = 0.123$ ). Für alle anderen berücksichtigten Faktoren konnte kein Einfluß nachgewiesen werden, auch die Unterschiede der einzelnen Trimenen waren nicht signifikant.



**Abb. 8.11: Kumulierte Häufigkeitsverteilung der Homocysteinkonzentrationen der nicht-supplementierten Studienteilnehmerinnen**



**Tab. 8.6: Häufigkeit (%) von Homocysteinkonzentrationen und Segmentationszahlen außerhalb des Normalbereiches bei Studienteilnehmerinnen, die weder Vitamin-B<sub>12</sub>- noch Folsäuresupplemente eingenommen haben**

Trimenon	Grenzwert	VWK		CG
		OLV	NVEG	
<b>Homocystein</b>				
1	> 8.8 µmol/L	41.7	15.8	23.6
2	> 6.3 µmol/L	73.3	65.4	26.1
3	> 10.2 µmol/L	18.2	6.3	5.9
<b>Gesamt</b>		<b>47.4</b>	<b>34.4</b>	<b>20.3</b>
<b>Segmentationszahl</b>				
1	> 3.0	18.2	31.3	10.0
2	> 3.0	28.6	30.8	43.5
3	> 3.0	54.5	16.7	75.0
<b>Gesamt</b>		<b>33.3</b>	<b>26.7</b>	<b>40.7</b>

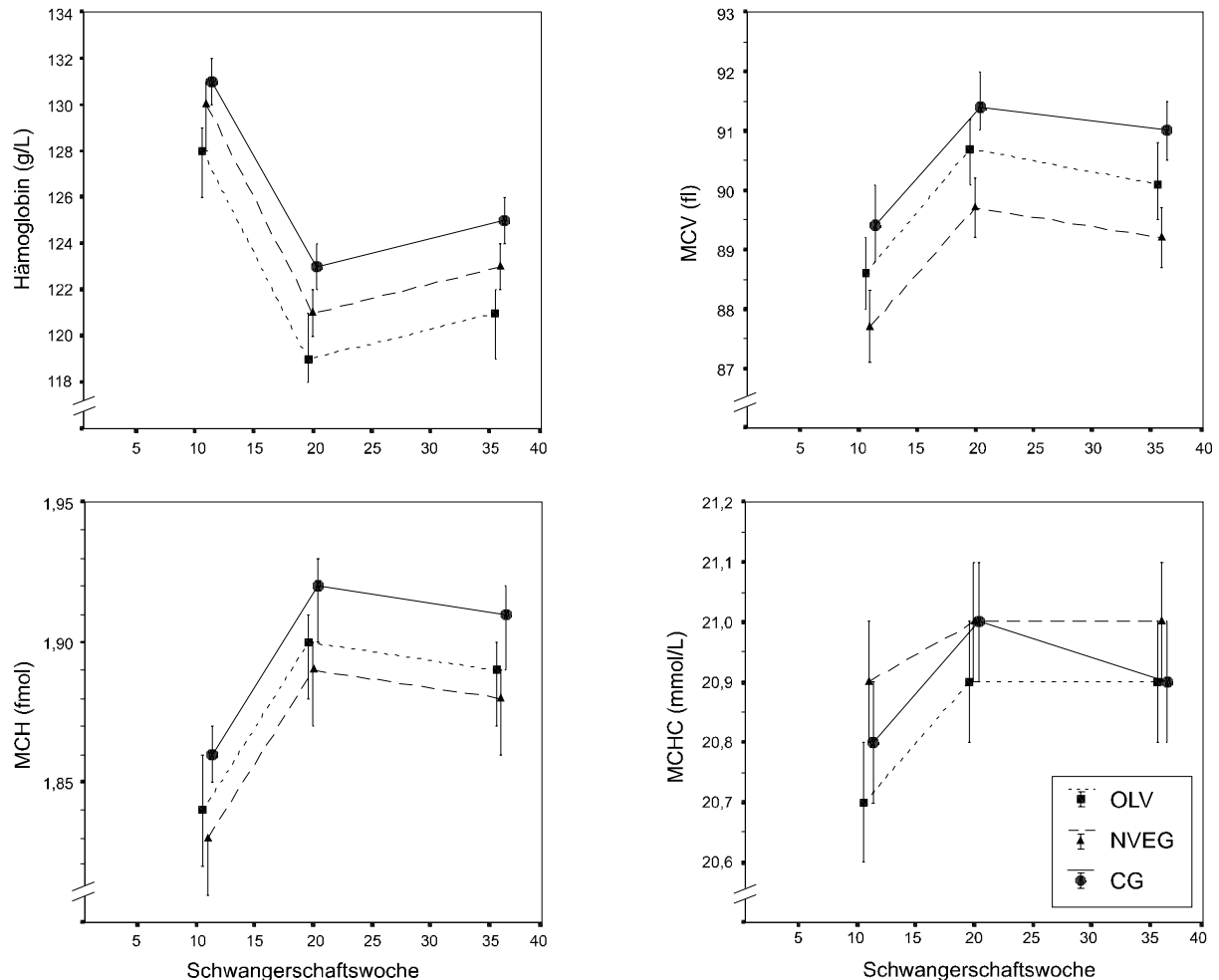
### 8.3.4 Hämoglobin und Erythrozytenindizes

Die **Hämoglobinkonzentrationen** (Hb) sanken in allen 3 Kostgruppen zwischen dem 1. und dem 2. Trimenon signifikant ab ( $p < 0.0001$ ) und stiegen dann wieder zum 3. Trimenon leicht an ( $p = 0.239$ ) (Abb. 8.12). Die Hb-Werte verliefen sich bei allen 3 Kostgruppen nahezu parallel. Die Kostform hatte trotz Berücksichtigung der Eisenversorgung der Studienteilnehmerinnen im Varianzanalyse-Modell einen signifikanten Einfluß auf die Hb-Konzentrationen ( $p = 0.009$ ). Die CG wies dabei die höchsten Werte auf, gefolgt von den NVEG, die OLV hatten die niedrigsten Werte (VWK vs. CG:  $p = 0.008$ ; OLV vs. NVEG:  $p = 0.124$ ). Der Eisenstatus, gemessen anhand der Konzentrationen an Zinkprotoporphyrin (ZPP,  $p = 0.021$ ) und Ferritin ( $p = 0.008$ ) hatte einen signifikanten Einfluß auf die Hb-Werte. Die Cobalamin- und Folatzufuhr über Supplemente und Multivitaminsäfte hatte keinen signifikanten Einfluß.

Das **mittlere zelluläre Volumen** (MCV) stieg in allen Kostgruppen zwischen dem 1. und dem 2. Trimenon signifikant an ( $p < 0.002$ ) und fiel dann wieder zum 3. Trimenon leicht ab ( $p = 0.405$ ) (Abb. 8.12). Auch hier sind die Verläufe in allem Kostgruppen nahezu parallel. Die Kostform hatte trotz Berücksichtigung der Eisenversorgung der Studienteilnehmerinnen einen signifikanten Einfluß auf das MCV ( $p = 0.007$ ). Die CG hatte signifikant höhere Werte als die VWK ( $p = 0.005$ ), OLV und NVEG unterscheiden sich nicht signifikant ( $p = 0.139$ ). Die ZPP-Konzentrationen zeigten einen signifikanten Einfluß auf das MCV ( $p < 0.0001$ ).

Der **mittlere zelluläre Hämoglobingehalt** (MCH) unterschied sich nicht signifikant bei den verschiedenen Kostgruppen ( $p = 0.088$ ). Er stieg zwischen dem 1. und dem 2. Trimenon signifikant an ( $p < 0.002$ ) und fiel dann wieder zum 3. Trimenon tendenziell ab ( $p = 0.541$ ) (Abb. 8.12). Die ZPP-Konzentrationen zeigten einen signifikanten Einfluß auf den MCH ( $p < 0.0001$ ).

Die **mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)** wurde weder von der Kostform ( $p = 0.637$ ) noch vom Trimenon ( $p = 0.438$ ) signifikant beeinflusst. Lediglich die ZPP-Konzentrationen zeigten einen signifikanten Einfluß auf die MCHC ( $p < 0.008$ ).



**Abb. 8.12: Eisenstatus-adjustierte Hämoglobinkonzentrationen und Erythrozytenindizes der nicht-supplementierten Studienteilnehmerinnen im Schwangerschaftsverlauf (Mean  $\pm$  SEM)**

#### 8.4 Zusammenhänge zwischen Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus

Die OLV haben von den allen Studienteilnehmerinnen die niedrigste Cobalaminzufuhr. In dieser Gruppe wurde außerdem eine positive lineare Beziehung zwischen Vitamin-B<sub>12</sub>-Aufnahme und den Folatkonzentrationen im Erythrozyten beobachtet ( $r = 0.510$ ;  $p = .001$ ). Bei den anderen Kostgruppen konnte ein solcher Zusammenhang nicht festgestellt werden (Abb. 8.13). Bei den OLV kam ein Folatmangel, definiert als Erythrozyten-Folatwerte unter 320 nmol/L, oder Erythrozyten-Folatkonzentrationen nahe dem Grenzwert nur bei einer Cobalaminzufuhr unterhalb von 3  $\mu\text{g}/\text{d}$  vor.

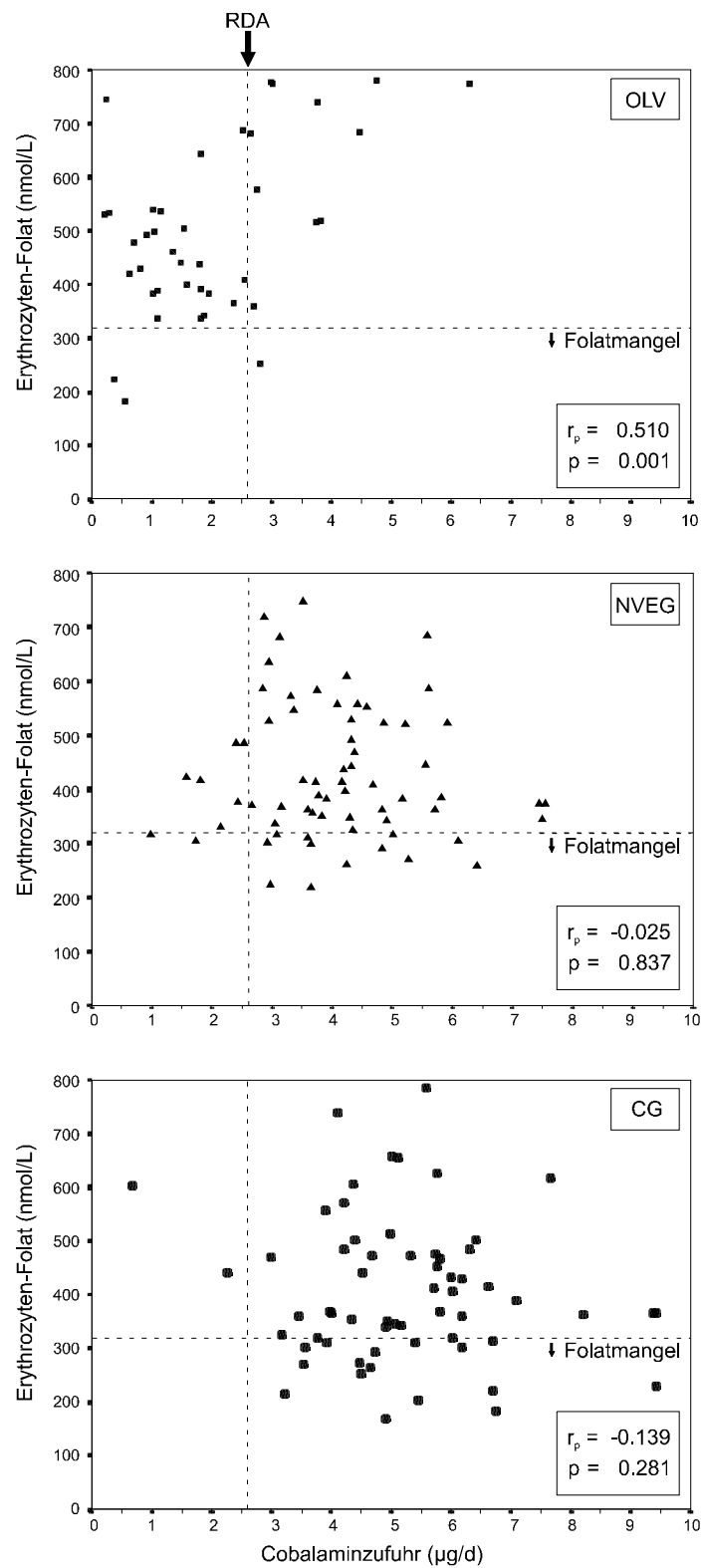


Abb. 8.13: Folatkonzentrationen im Erythrozyten und Cobalaminzufuhr der nicht-folatsupplementierten Studienteilnehmerinnen

Die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum zeigten einen positiven linearen Zusammenhang sowohl mit den Serum- als auch mit den Erythrozyten-Folatkonzentrationen (Tab. 8.7). Ein Zusammenhang zwischen Cobalaminzufuhr und Serum-Folat konnte in keiner Kostgruppe festgestellt werden.

**Tab. 8.7: Bestimmungsgrößen (unstandardisierte Regressionskoeffizienten) von Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten**

	Plasma-Folat (nmol/L) <sup>1</sup>		Erythrozyten-Folat (nmol/L)	
	B ± SE	Sign.	B ± SE	Sign.
Serum-Vitamin-B <sub>12</sub> (pmol/L) <sup>1</sup>	0.199 ± 0.063	0.002	233.7 ± 55.5	< 0.0001
Folatzufuhr aus Multivitaminensäften (µg FFE/d)	0.001 ± 0.000	< 0.0001	1.0 ± 0.3	0.002
Folatzufuhr aus Supplementen (µg FFE/d)	0.001 ± 0.000	< 0.0001	0.2 ± 0.1	0.001
Kostgruppe: OLV	0.085 ± 0.030	0.005	81.0 ± 26.3	0.002
NVEG	0.055 ± 0.024	0.020	21.0 ± 21.1	0.320
CG	0 <sup>2</sup>	-	0 <sup>2</sup>	-
Trimenon: 1	0.087 ± 0.029	0.003	-100.8 ± 25.3	< 0.0001
2	-0.004 ± 0.026	0.988	8.0 ± 23.2	0.731
3	0 <sup>2</sup>	-	0 <sup>2</sup>	-

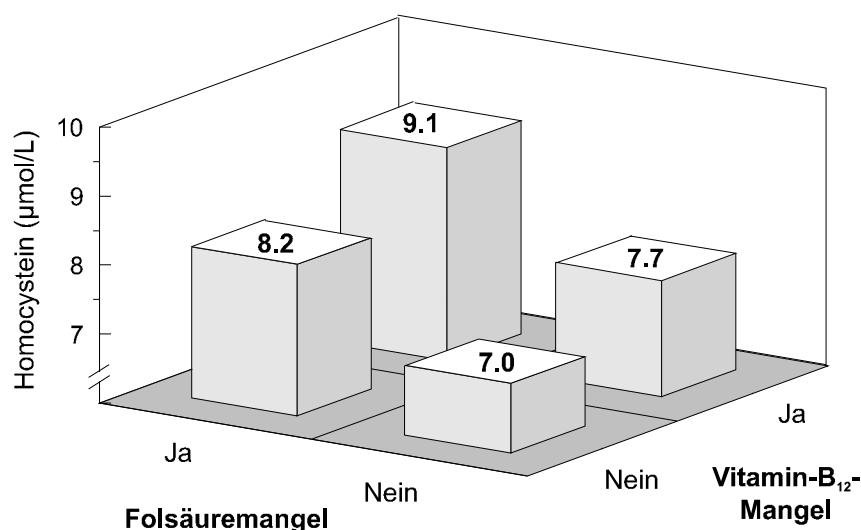
<sup>1</sup> Berechnungen für die log-transformierte Variable,

<sup>2</sup> Referenzwert: CG im 3. Trimenon.

Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> adj. (Signifikanz F-Test): Plasma-Folat 0.298 (p < 0.0001); Erythrozyten-Folat 0.228 (p < 0.0001)

## 8.5 Zusammenhänge von Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus mit den Homocystein-konzentrationen und der Segmentation neutrophiler Granulozyten

Ein Folatmangel wirkte sich ebenso wie ein Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel negativ auf die Homocystein-Konzentrationen während der gesamten Schwangerschaft aus. Die höchsten Homocysteinwerte wurden bei den Teilnehmerinnen gemessen, die sowohl einen Folsäure- als auch einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel hatten (Abb. 8.14).



**Abb. 8.14: Mittlere Homocystein-Konzentrationen nicht-supplementierter Studienteilnehmerinnen in Abhängigkeit von Folsäure- bzw. Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel**

Mehrere multiple lineare Regressionsmodelle (Tab. 8.8) zeigen, daß die Einflußgrößen auf die Homocysteinkonzentrationen innerhalb der verschiedenen Kostformen unterschiedliche Bedeutung hatten. Die Homocysteinwerte sind vor dieser Berechnung hinsichtlich der Einflüsse durch die Einnahme von Supplementen adjustiert worden. Während die Homocysteinwerte bei den OLV sowohl von den jeweiligen Serum-Folatkonzentrationen als auch von den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma abhingen, war bei den NVEG und der CG nur der Einfluß der Folatkonzentrationen signifikant. Da bekannt ist, daß im Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel die Folatkonzentrationen im Plasma ansteigen, wurde in die Regressionsmodelle außerdem ein Wechselwirkungsterm (s. Kap. 6.6) aufgenommen, der ebenfalls einen signifikanten Einfluß auf die Homocysteinkonzentrationen bei den OLV zeigte. Für den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status waren die holo-Hap-Konzentrationen die stärkste Einflußgröße. Es bestand auch ein negativer Zusammenhang zwischen Homocysteinkonzentrationen und Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten ( $r_p = -0.201$ ;  $p = 0.002$ ). Die Unterschiede in den Zusammenhängen zwischen dem Vitamin-B<sub>12</sub>- bzw. Folatstatus und Homocysteinkonzentrationen sind in Abb. 8.15 dargestellt.

Auf die Segmentationsrate und den Segmentationsindex zeigten Parameter des Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus in einer multiplen linearen Regression keinen signifikanten Einfluß.

**Tab. 8.8: Bestimmungsgrößen (unstandardisierte Regressionskoeffizienten) der Homocysteinkonzentrationen ( $\mu\text{mol/L}$ ) in Plasma<sup>1</sup>**

	OLV		NVEG	
	B $\pm$ SE	Sign.	B $\pm$ SE	Sign.
Plasma-Folat (nmol/L) <sup>2</sup>	- 3.986 $\pm$ 1.178	0.001	- 1.882 $\pm$ 0.663	0.007
holo-Hap (pmol/L) <sup>2</sup>	- 2.851 $\pm$ 0.931	0.003	-	n.s.
Wechselwirkungsterm Folat $\times$ Vitamin-B <sub>12</sub> <sup>2</sup>	0.003 $\pm$ 0.000	0.043	-	n.s.
Trimenon: 1	0 <sup>3</sup>	-	0 <sup>3</sup>	-
2	-	n.s.	- 0.684 $\pm$ 0.243	0.006
3	-	n.s.	-	n.s.

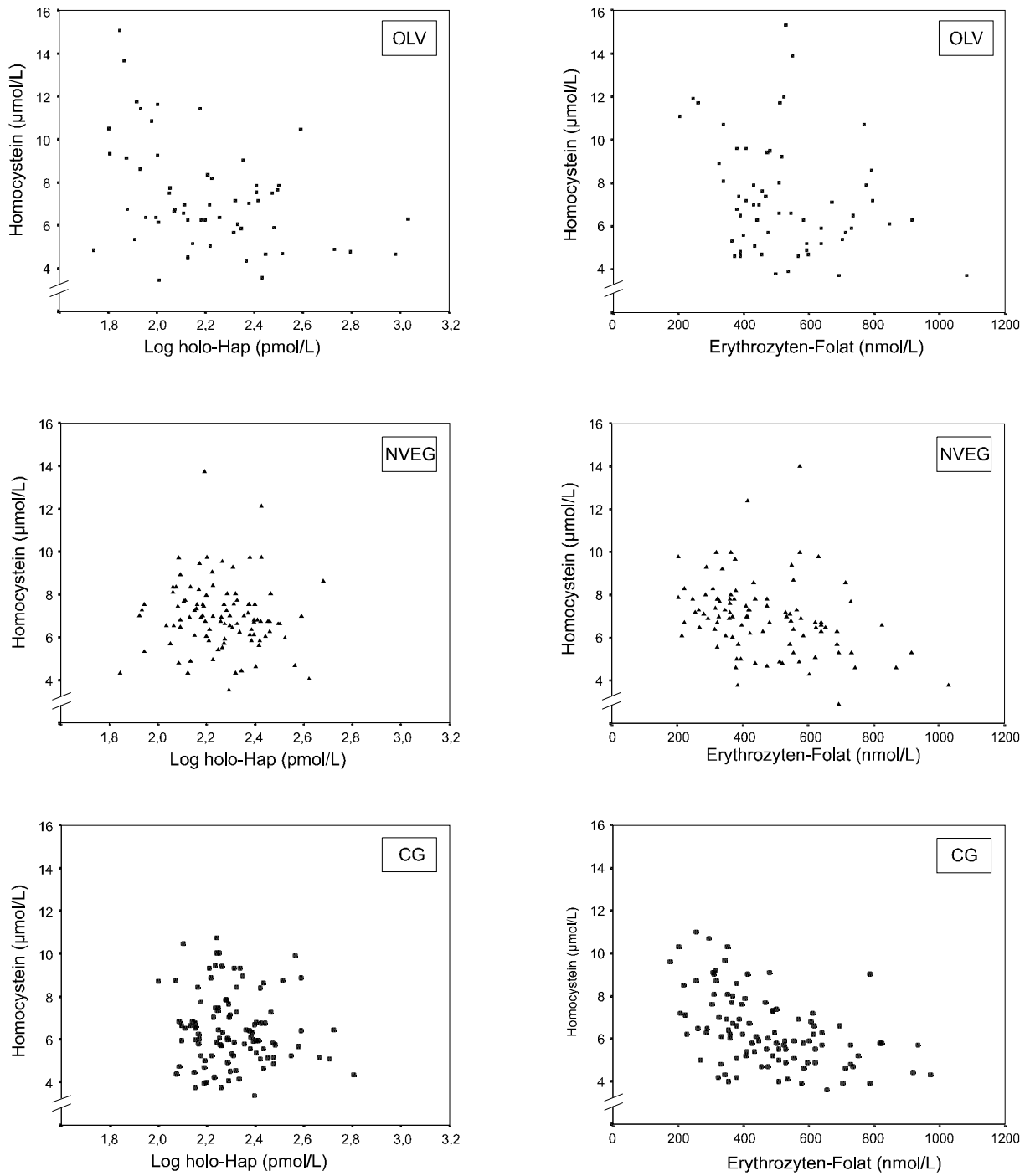
  

	CG		Gesamtgruppe	
	B $\pm$ SE	Sign.	B $\pm$ SE	Sign.
Plasma-Folat (nmol/L) <sup>2</sup>	- 3.165 $\pm$ 0.739	< 0.0001	- 2.785 $\pm$ 0.503	< 0.0001
holo-Hap (pmol/L) <sup>2</sup>	-	n.s.	- 2.378 $\pm$ 0.494	< 0.0001
Wechselwirkungsterm Folat $\times$ Vitamin-B <sub>12</sub> <sup>2</sup>	-	n.s.	0.002 $\pm$ 0.000	0.008
Trimenon: 1	0 <sup>3</sup>	-	0 <sup>3</sup>	-
2	- 0.758 $\pm$ 0.264	0.005	- 0.701 $\pm$ 0.196	0.000
3	-	n.s.	- 0.530 $\pm$ 0.200	0.008

<sup>1</sup> Bestimmtheitsmaß  $R^2$  adj. (Signifikanz F-Test): OLV 0.265 ( $p < 0.0001$ ); NVEG 0.081 ( $p = 0.001$ ); CG 0.154 ( $p < 0.0001$ ); Gesamtgruppe 0.163 ( $p < 0.0001$ )

<sup>2</sup> Berechnungen für die log-transformierte Variable

<sup>3</sup> Referenzwert: 1. Trimenon.



**Abb. 8.15:** Zusammenhang zwischen Homocysteinkonzentrationen und Vitamin-B<sub>12</sub>- bzw. Folatstatus anhand von holo-Hap- und Erythrocytenfolatkonzentrationen

## 8.6 Zusammenhänge von Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus mit den Hämoglobinkonzentrationen und den Erythrozytenindizes

In einer multiplen linearen Regression konnten für die Gesamtgruppe der Studienteilnehmerinnen signifikante Einflüsse des Cobalamin- und Folatstatus auf die Hämoglobinkonzentrationen nachgewiesen werden. Wichtigste Bestimmungsgröße waren die holo-Hap-Konzentrationen im Serum sowie der Wechselwirkungsterm zwischen Folat- und Vitamin-B<sub>12</sub>-Status (Tab. 8.9). Die Hämoglobinwerte sind vor dieser Berechnung hinsichtlich der Einflüsse des Eisenstatus sowie der Einnahme von Supplementen adjustiert worden, um eine Multikollinearität zu vermeiden.

**Tab. 8.9: Bestimmungsgrößen (unstandardisierte Regressionskoeffizienten) der Hämoglobinkonzentrationen<sup>1</sup> (g/L)**

	Gesamtgruppe	
	B ± SE	Sign.
Plasma-Folat (nmol/L) <sup>2</sup>	-	n.s.
holo-Hap (pmol/L) <sup>2</sup>	7.857 ± 2.659	< 0.0001
Wechselwirkungsterm Folat × Vitamin-B <sub>12</sub> <sup>2</sup>	- 0.007 ± 0.000	0.008
Trimenon:	0 <sup>3</sup>	-
1	- 5.557 ± 0.934	< 0.0001
2	- 2.909 ± 0.960	0.003
3		

<sup>1</sup> Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> adj. (Signifikanz F-Test): 0.117 (p < 0.0001)

<sup>2</sup> Berechnungen für die log-transformierte Variable

<sup>3</sup> Referenzwert: 1. Trimenon.

Bei den Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC sowie bei den Erythrozytenzahlen konnten in Regressionsmodellen keinerlei signifikante Zusammenhänge mit den Parametern des Vitamin-B<sub>12</sub>- oder Folatstatus nachgewiesen werden. Trotzdem unterschieden sich Hämoglobinkonzentrationen und Erythrozytenzahlen bei Teilnehmerinnen mit einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel signifikant von denen, die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen innerhalb des Normalbereiches aufwiesen. Alle folgenden Berechnungen wurden mit Hilfe einer Varianzanalyse durchgeführt, die die Einflüsse des Trimenons der Schwangerschaft sowie die Einflüsse des Eisenstatus berücksichtigt. Bei einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel, definiert als mindestens einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Parameter unterhalb des Grenzwertes, lagen die durchschnittlichen Hämoglobinkonzentrationen bei 121 ± 9 g/L gegenüber 125 ± 8 g/L bei den Teilnehmerinnen, die keine Anzeichen eines Vitamin-B<sub>12</sub>- Mangels zeigten (p = 0.001).

Die Erythrozytenzahlen derjenigen Teilnehmerinnen, die Anzeichen eines Vitamin-B<sub>12</sub>- Mangels zeigten, lagen bei 4.0 ± 0.4 × 10<sup>12</sup>/L; Studienteilnehmerinnen ohne einen Vitamin-B<sub>12</sub>- Mangel hatten durchschnittliche Erythrozytenzahlen von 4.1 ± 0.4 × 10<sup>12</sup>/L (p = 0.094). Stärker waren die Unterschiede ausgeprägt, wenn lediglich die holo-Hap-Konzentrationen

unterhalb des Normalbereiches als Zeichen eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels berücksichtigt wurden ( $p < 0.026$ ).

## 8.7 Zusammenhänge von Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus mit Nährstoffzufuhr und Lebensmittelverzehr

Die Ergebnisse verschiedener Regressionsmodelle zeigten keinerlei Zusammenhang zwischen der Dauer einer Vollwert-Ernährung oder der Dauer einer vegetarischen Ernährung und den Parametern des Vitamin-B<sub>12</sub>- bzw. Folatstatus. Diese Faktoren wurden daher nicht in die unten aufgeführten Regressionsmodelle aufgenommen. Zur Berücksichtigung der schwangerschaftsbedingten Einflüsse auf die Blutparameter enthalten alle Modelle das Trimenon der Messung.

### 8.7.1 Vitamin-B<sub>12</sub>-Status

#### 8.7.1.1 Zusammenhänge zwischen Vitamin-B<sub>12</sub>-Status und Nährstoffzufuhr

Die Ergebnisse einer multiplen linearen Regression zeigten signifikante Zusammenhänge zwischen der Cobalaminzufuhr und den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum ( $R^2_{\text{adj}} = 0.259$ ,  $p < 0.0001$ ) sowie zwischen der Cobalaminzufuhr und den holo-Hap-Konzentrationen ( $R^2_{\text{adj}} = 0.200$ ,  $p < 0.0001$ ). Eine Steigerung der Cobalaminzufuhr um 1.0 µg/d bedeutete eine Erhöhung der logarithmierten Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen um den Faktor (unstandardisierter Regressionskoeffizient  $B \pm \text{SEE}$ )  $0.034 \pm 0.004$  ( $p < 0.0001$ ) und eine Erhöhung der logarithmierten holo-Hap-Konzentrationen um den Faktor  $0.033 \pm 0.005$  ( $p < 0.0001$ ).

Bei einer Zerlegung der Cobalaminzufuhr in Kategorien mit Schritten von je 0.5 µg/d, unterschied sich die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum in der höchsten Zufuhrkategorie (> 5.0 µg/d) signifikant in 4 von 6 Kategorien mit einer Zufuhr unter 4.0 µg/d. Die Regressionskoeffizienten waren dabei stets negativ (Tab. 8.10). Eine Cobalaminzufuhr über 4.0 µg/d bewirkte also keine weitere signifikante Erhöhung der Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen. Die gleichen Ergebnisse zeigt ein Regressionsmodell, bei dem die holo-Hap-Konzentrationen als abhängige Variable eingesetzt wurde. Die mittleren Vitamin-B<sub>12</sub>- und holo-Hap-Konzentrationen der einzelnen Zufuhrkategorien sind in Abb. 8.16 dargestellt.

Die Berechnungen wurden für den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status exemplarisch anhand der Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen und der holo-Hap-Konzentrationen durchgeführt, da diese Parameter auch in die Berechnung der prozentualen Sättigungen eingegangen sind und die Ergebnisse der Regressionsmodelle daher identisch mit den aufgeführten Modellen sind. Die



ungesättigten Transcobalaminfraktionen zeigen keinen Zusammenhang mit der Nährstoffzufuhr.

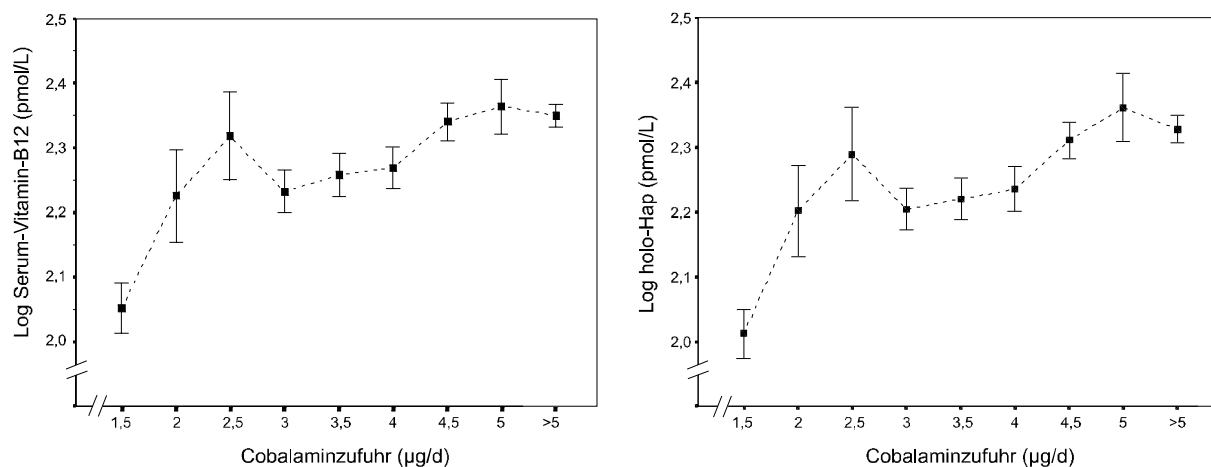
**Tab. 8.10: Unstandardisierte Regressionskoeffizienten (B)<sup>1</sup> für die kategorisierte Cobalaminzufuhr bei Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>- und holo-Hap-Konzentrationen**

		Serum-Vitamin-B <sub>12</sub> (pmol/L) <sup>2</sup>		holo-Hap (pmol/L) <sup>2</sup>	
		B ± SE	Sign.	B ± SE	Sign.
<b>Trimenon:</b>	1	1 <sup>3</sup>	-	1 <sup>3</sup>	-
	2	- 0.066 ± 0.025	0.009	- 0.064 ± 0.028	0.024
	3	- 0.173 ± 0.026	< 0.0001	- 0.158 ± 0.029	< 0.0001
<b>Cobalaminzufuhr (µg/d):</b>	< 1.5	- 0.317 ± 0.040	< 0.0001	- 0.334 ± 0.044	< 0.0001
	< 2.0	- 0.170 ± 0.054	0.002	- 0.168 ± 0.060	0.006
	< 2.5	- 0.048 ± 0.053	0.374	- 0.044 ± 0.063	0.486
	< 3.0	- 0.143 ± 0.039	< 0.0001	- 0.146 ± 0.043	0.001
	< 3.5	- 0.059 ± 0.040	0.136	- 0.078 ± 0.044	0.081
	< 4.0	- 0.094 ± 0.037	0.012	- 0.104 ± 0.041	0.013
	< 4.5	- 0.017 ± 0.033	0.605	- 0.023 ± 0.036	0.518
	< 5.0	- 0.016 ± 0.041	0.706	- 0.040 ± 0.045	0.930
	≥ 5.0	1 <sup>3</sup>	-	1 <sup>3</sup>	-

<sup>1</sup> Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> adj. (Signifikanz F-Test): Serum-Vitamin-B<sub>12</sub> 0.291 (p < 0.0001); holo-Hap 0.248 (p < 0.0001)

<sup>2</sup> Berechnungen für die log-transformierte Variable

<sup>3</sup> Referenzwert



**Abb. 8.16: Zusammenhang zwischen Cobalaminzufuhr (in Kategorien) und Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen sowie holo-Hap-Konzentrationen im Serum (Mean ± SEM)**

Auf das Risiko eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels hatte die Cobalaminzufuhr ebenfalls einen signifikanten Einfluß (p = < 0.0001). Das relative Risiko (odds ratio) eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels sank um 0.58 pro 1 µg mehr aufgenommenem Cobalamin/d. Wird die Cobalaminzufuhr in Kategorien mit Schritten von je 0.5 µg/d zerlegt, war das relative Risiko eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels bis zu einer Zufuhr von weniger als 3 µg/d bis auf eine Kategorie signifikant höher als bei einer Zufuhr von über 5.0 µg/d. Bei einer täglichen Cobalaminzufuhr unter 1.5 µg war das Risiko 24.6 mal höher als bei einer Zufuhr von über 5.0 µg. Ab einer Zufuhr von 4 µg/d sind auch keine marginalen Risikoerhöhungen mehr erkennbar (Tab. 8.11).

**Tab. 8.11: Relatives Risiko (odds ratio)<sup>1</sup> eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels in Abhängigkeit von der Cobalaminzufuhr**

		Odds ratio (CI-95%)	Sign. <sup>2</sup>
<b>Trimenon:</b>	1	1 <sup>3</sup>	-
	2	3.2 (1.1 - 9.0)	0.027
	3	3.1 (1.1 - 9.0)	0.033
<b>Cobalaminzufuhr (µg/d)</b>	< 1.5	24.6 (7.1 - 84.7)	< 0.0001
	< 2.0	6.3 (1.3 - 30.8)	0.023
	< 2.5	1.1 (0.1 - 10.3)	0.902
	< 3.0	4.8 (1.5 - 16.1)	0.009
	< 3.5	2.6 (0.7 - 10.0)	0.150
	< 4.0	3.1 (0.9 - 10.5)	0.070
	< 4.5	1.1 (0.3 - 4.3)	0.902
	< 5.0	0.6 (0.1 - 5.0)	0.629
	≥ 5.0	1 <sup>3</sup>	-

<sup>1</sup> Hosmer and Lemeshow Goodness-of-Fit test:  $\chi^2 = 2.6232$ ;  $p = 0.9175$ ; korrekte Klassifikation durch das Modell 85.6 %

<sup>2</sup> Signifikanz des unstandardisierten, logistischen Regressionskoeffizienten B, Wald-Statistik

<sup>3</sup> Referenzwert

### 8.7.1.2 Zusammenhänge zwischen Vitamin-B<sub>12</sub>-Status und Lebensmittelverzehr

Die Verzehrsmenge bestimmter Lebensmittelgruppen hatte einen signifikanten positiven Einfluß auf den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status. Den stärksten Zusammenhang gab es zwischen den Konzentrationen von Vitamin B<sub>12</sub> im Serum und dem Verzehr von Milch und Milchprodukten, gefolgt vom Fleischverzehr und dem Verzehr von Eiern. Milch und Milchprodukte konnten als einzelne Lebensmittelgruppe die größten Anteil in der Streuung (Varianz) der Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen erklären. Der Verzehr von Milch- bzw. Milchprodukten und Fleisch zusammen konnten die Varianz am besten erklären. Um die Tatsache zu berücksichtigen, daß innerhalb der Kostformen die Verzehrsmenge von Milch und Milchprodukten zugunsten der Fleischmenge gesenkt oder die Fleischmenge zugunsten des Verzehrs an Milch und Milchprodukten reduziert wurde, ging ein Wechselwirkungsterm zwischen der verzehrten Menge an Fleisch sowie Milch bzw. Milchprodukten in das Modell mit ein. Auch die Aufnahme dieses Wechselwirkungstermes konnte den Anteil der Varianz, die durch das Modell erklärt wird, nur unwesentlich erhöhen. Die Menge des verzehrten Fisches hatte ebenso wie der Verzehr von Multivitaminensäften keinen signifikanten Einfluß auf den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status (Tab. 8.12).

Das Risiko eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels hatten nur der Verzehr von Milch bzw. Milchprodukten ( $p < 0.0001$ ) und der Verzehr von Fleisch ( $p < 0.0001$ ) einen signifikanten Einfluß. Zwischen dem Risiko eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels und allen anderen Lebensmittelgruppen gab es keinen Zusammenhang.

**Tab. 8.12: Varianz (%) der Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen, die durch die Verzehrsmenge verschiedener Lebensmittel erklärt wird**

	Serum-Vitamin-B <sub>12</sub> (pmol/L)	
	R <sup>2</sup> adj. (%)	Sign. <sup>2</sup>
Modell 1 <sup>1</sup>	13.7	< 0.0001
Modell 1 + MVIT	12.2	0.121
Modell 1 + MIPS	25.0	< 0.0001
Modell 1 + Eier	15.3	0.017
Modell 1 + Fleisch	18.9	< 0.0001
Modell 1 + Fisch	14.0	0.189
Modell 1 + MVIT + MIPS	25.1	< 0.0001
Modell 1 + MVIT + MIPS + Eier	25.5	0.112
Modell 1 + MIPS + Fleisch	30.0	< 0.0001
Modell 1 + MIPS + Fleisch + MIPS × Fleisch	30.6	< 0.0001
Modell 1 + MVIT + MIPS + Eier + Fleisch + Fisch	30.1	< 0.0001

<sup>1</sup> Variablen im Modell 1: Trimenon, Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr aus Supplementen

<sup>2</sup> Signifikanz F-Statistik von R<sup>2</sup>-Change

Abkürzungen: MVIT Multivitamin säfte; MIPS Milch bzw. Milchprodukte

## 8.7.2 Folatstatus

### 8.7.2.1 Zusammenhänge zwischen Folatstatus und Nährstoffzufuhr

Die Ergebnisse einer multiplen linearen Regression zeigten signifikante Zusammenhänge zwischen den Folatkonzentrationen im Erythrozyten und der Folat- sowie der Cobalaminzufuhr ( $R^2_{\text{adj}} = 0.176$ ,  $p < 0.0001$ ). Eine Steigerung der Folatzufuhr um 1.0 µg/d bedeutete eine Erhöhung der Erythrozyten-Folatkonzentrationen um  $0.224 \pm 0.054$  nmol/L ( $p < 0.0001$ ); eine Steigerung der Cobalaminzufuhr um 1.0 µg/d bedeutete eine Erhöhung um  $23.533 \pm 7.077$  nmol/L ( $p = 0.001$ ).

Bei einer Zerlegung der Folatzufuhr in Kategorien mit Schritten von je 50 µg/d unterschieden sich die Erythrozyten-Folatkonzentrationen in der höchsten Zufuhrkategorie (> 400 µg FFE/d) signifikant von allen Kategorien mit einer Zufuhr unter 300 µg FFE/d (Tab. 8.13). Eine Zufuhr von 300 µg FFE/d - also etwa 600 µg Gesamtfolat (= DFE)/d - entspricht den aktuellen Empfehlungen DGE (1991) und IOM (1998). Die Cobalaminzufuhr in Kategorien mit Schritten von je 0.5 µg/d zeigte bis zu einer täglichen Zufuhr von 4 µg/d in fast allen Zufuhrstufen einen signifikanten Einfluß auf die Folatkonzentrationen im Erythrozyten. Eine Cobalaminzufuhr über 4.0 µg/d bewirkte also keine weitere signifikante Erhöhung der Folatkonzentrationen im Erythrozyten (Tab. 8.13).

Eine vegetarische Ernährung hatte unabhängig von der Folat- und Cobalaminzufuhr einen weiteren signifikanten Einfluß auf die Folatkonzentrationen im Erythrozyten. Die Aufnahme des Faktors „Vegetarische Ernährung“ bewirkte eine signifikante Verbesserung des multiplen linearen Regressionsmodelles ( $R^2$  Change = 0.042; Sign. F Change < 0.0001). Der Einfluß

der Cobalaminzufuhr auf die Folatkonzentrationen im Erythrozyten ist erst bei Aufnahme dieses Faktors deutlich erkennbar. Eine vegetarische Ernährung erhöht die Folatkonzentrationen im Erythrozyten um durchschnittlich  $101 \pm 27$  nmol/L. (Tab. 8.13).

Die mittleren Erythrozyten-Folatkonzentrationen in Abhängigkeit von der Cobalamin- und Folatzufuhr in Zufuhrkategorien sind in Abb. 8.17 dargestellt.

**Tab. 8.13: Unstandardisierte Regressionskoeffizienten (B)<sup>1</sup> für die kategorisierte Folat- bzw. Cobalaminzufuhr bei den Folatkonzentrationen im Erythrozyten ohne (Modell 1) und mit (Modell 2) Berücksichtigung des Faktors „vegetarische Ernährung“**

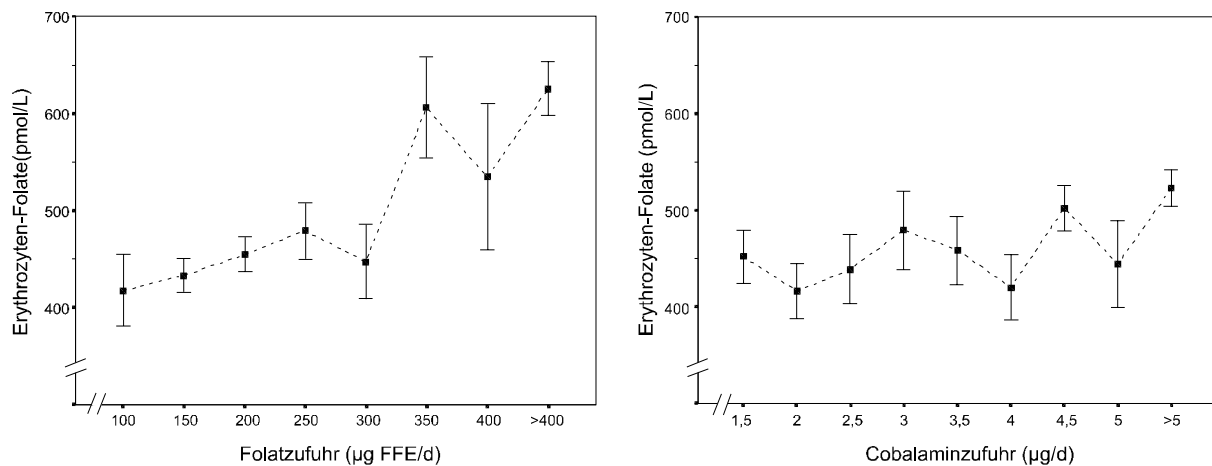
		Erythrozyten-Folat (nmol/L) Modell 1		Erythrozyten-Folat (nmol/L) Modell 2	
		B ± SE	Sign.	B ± SE	Sign.
<b>Trimenon:</b>	1	1 <sup>2</sup>	-	1 <sup>2</sup>	-
	2	111.937 ± 24.742	< 0.0001	100.109 ± 24.322	< 0.0001
	3	65.530 ± 25.817	0.012	58.208 ± 25.240	0.022
<b>Folatzufuhr (µg/d):</b>	< 150	- 135.150 ± 30.759	< 0.0001	- 128.463 ± 30.035	< 0.0001
	< 200	- 125.868 ± 30.205	< 0.0001	- 117.392 ± 29.528	< 0.0001
	< 250	- 95.870 ± 35.364	0.007	- 95.087 ± 34.471	0.006
	< 300	- 112.041 ± 44.621	0.013	- 109.341 ± 43.500	0.013
	< 350	41.642 ± 51.570	0.420	59.733 ± 50.497	0.238
	< 400	- 36.036 ± 53.903	0.504	- 25.628 ± 52.614	0.627
	> 400	1 <sup>2</sup>	-	1 <sup>2</sup>	-
<b>Cobalaminzufuhr (µg/d):</b>	< 1.5	- 18.861 ± 39.571	0.634	- 100.190 ± 44.244	0.024
	< 2.0	- 76.104 ± 50.922	0.136	- 126.640 ± 52.410	0.016
	< 2.5	- 98.784 ± 53.226	0.065	- 135.102 ± 52.066	0.010
	< 3.0	- 12.971 ± 38.601	0.737	- 34.391 ± 38.056	0.367
	< 3.5	- 60.892 ± 39.314	0.123	- 68.831 ± 38.379	0.074
	< 4.0	- 86.299 ± 36.090	0.018	- 94.372 ± 35.244	0.008
	< 4.5	8.176 ± 31.720	0.797	- 10.176 ± 31.308	0.742
	< 5.0	- 64.339 ± 39.511	0.105	- 59.676 ± 38.533	0.123
	≥ 5.0	1 <sup>2</sup>	-	1 <sup>2</sup>	-
<b>Vegetarische Ernährung:</b>	Ja	-	-	101.272	< 0.0001
	Nein	-	-	1 <sup>2</sup>	-

<sup>1</sup> Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> adj. (Signifikanz F-Test): Modell 1: 0.168 (p < 0.0001); Modell 2: 0.210 (p < 0.0001)

<sup>2</sup> Referenzwert

Auf das Risiko eines Folatmangels hatte die Folatzufuhr einen signifikanten Einfluß (p 0.051). Das relative Risiko (odds ratio) eines Folatmangels sank sowohl pro 1 µg FFE/d um 0.99. Zwischen Folatmangel und Cobalaminzufuhr gab es lediglich bei den Vegetarierinnen einen signifikanten Zusammenhang (p = 0.040). Hier sank das Risiko eines Folatmangels pro 1 µg Cobalamin/d um 0.37.

Die Berechnung eines kategoriellen logistischen Regressionsmodells führte nicht zu signifikanten Ergebnissen. Es konnte kein Grenzwert der Nährstoffzufuhr für die Beeinflussung des Risikos eines Folatmangels festgelegt werden,



**Abb. 8.17: Zusammenhang zwischen Cobalamin- und Folatezufuhr (in Kategorien) und Folatkonzentrationen im Erythrozyten (Mean  $\pm$  SEM)**

### 8.7.2.2 Zusammenhänge zwischen Folatstatus und Lebensmittelverzehr

Anhand der vorliegenden Ergebnisse sind Zusammenhänge zwischen der Verzehrsmenge bestimmter Lebensmittelgruppen und dem Folatstatus nur für wenige Lebensmittel festzustellen. Einen signifikanten positiven Zusammenhang gab es zwischen den Konzentrationen von Folat im Erythrozyten und dem Verzehr von Milch und Milchprodukten, gefolgt vom Verzehr von Multivitaminsäften. Der Anteil der erklärten Varianz war jedoch nur geringfügig (Tab. 8.14). Erst die Kombination mehrerer Lebensmittelgruppen in einem Regressionsmodell erhöhte die erklärte Varianz signifikant. So sind die Einflüsse des Verzehrs von Obst, Gemüse und Hülsenfrüchten allein nicht signifikant, sondern erst zusammen mit dem Anteil unerhitzter Frischkost (Obst und Gemüse). Die Menge des verzehrten Obstes sowie der Hülsenfrüchte hatte einen negativen Einfluß, die Menge unerhitzter Frischkost einen positiven Einfluß auf die Folatkonzentrationen im Erythrozyten.

Auf das Risiko eines Folatmangels hatten der Verzehr von Milch bzw. Milchprodukten ( $p = 0.031$ ), der Anteil unerhitzter Frischkost ( $p = 0.006$ ) sowie der Obstverzehr ( $p = 0.004$ ) einen signifikanten Einfluß. Einer Steigerung des Verzehrs von Milch und Milchprodukten sowie des Frischkostanteils senkte das Risiko eines Folatmangels, eine Steigerung der Obstverzehrsmenge erhöhte das Risiko. Zwischen dem Risiko eines Folatmangels und allen anderen Lebensmittelgruppen gab es keinen signifikanten Zusammenhang.

**Tab. 8.14: Varianz (%) der Folatkonzentrationen im Erythrozyten, die durch die Verzehrsmenge verschiedener Lebensmittel erklärt wird**

	Erythrozyten-Folat (nmol/L)	
	R <sup>2</sup> adj. (%)	Sign. <sup>2</sup>
Modell 1 <sup>1</sup>	15.0	< 0.0001
Modell 1 + MVIT	17.8	0.002
Modell 1 + Gemüse	14.9	0.408
Modell 1 + Hülsenfrüchte	15.6	0.085
Modell 1 + Obst	14.7	0.658
Modell 1 + MIPS	18.5	0.001
Modell 1 + Fleisch, Fisch	15.1	0.221
Modell 1 + MIPS + Fleisch, Fisch	18.8	0.001
Modell 1 + MVIT + Obst + Gemüse + Hülsenfrüchte + MIPS + Fleisch, Fisch + Frischkostanteil	21.1	< 0.0001

<sup>1</sup> Variablen im Modell 1: Trimenon, Folat- und Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr aus Supplementen

<sup>2</sup> Signifikanz F-Statistik von R<sup>2</sup>-Change gegenüber Modell 1

Abkürzungen: MVIT Multivitaminsäfte; MIPS Milch bzw. Milchprodukte

### 8.7.3 Homocysteinkonzentrationen

#### 8.7.3.1 Zusammenhänge zwischen Homocysteinkonzentrationen und Nährstoffzufuhr

Die Ergebnisse einer multiplen linearen Regression zeigten signifikante Zusammenhänge zwischen den Homocysteinkonzentrationen und der Folat- sowie der Cobalaminzufuhr ( $R^2_{\text{adj}} = 0.132$ ,  $p < 0.0001$ ). Eine Steigerung der Folatzufuhr um 1.0 µg/d bedeutete ein Absinken der Homocysteinkonzentrationen um  $0.002 \pm 0.001$  µmol/L ( $p = 0.004$ ); eine Erhöhung der Cobalaminzufuhr um 1.0 µg/d bedeutete ein Absinken um  $0.253 \pm 0.085$  µmol/L ( $p = 0.003$ ). Eine vegetarische Ernährung hatte keinen zusätzlichen signifikanten Einfluß auf die Homocysteinkonzentrationen.

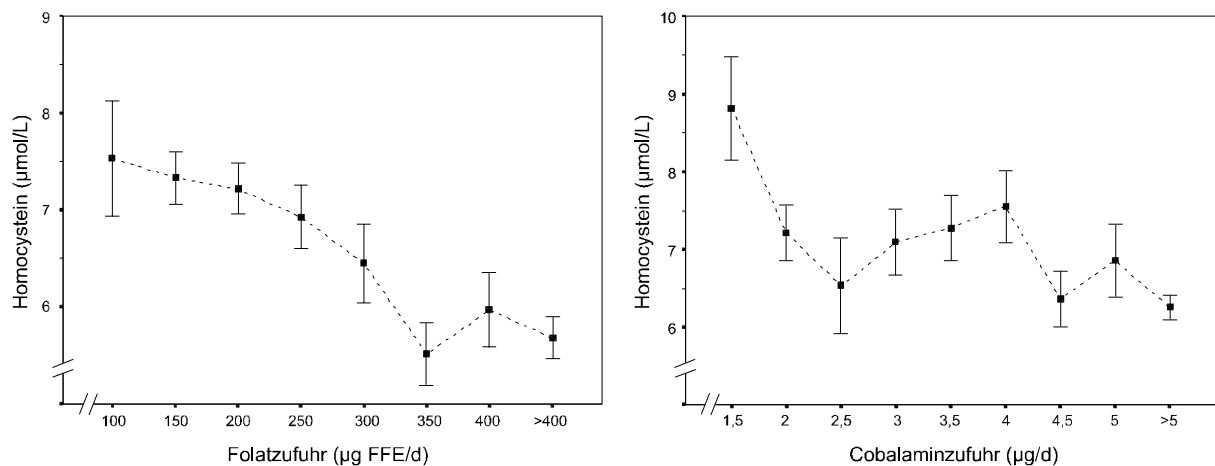
Bei einer Zerlegung der Folatzufuhr in Kategorien mit Schritten von je 50 µg/d waren die Homocysteinkonzentrationen in der höchsten Zufuhrkategorie (> 400 µg FFE/d) signifikant niedriger als in den Kategorien mit einer Zufuhr unter 250 µg FFE/d (Tab. 8.15). Die Cobalaminzufuhr zeigte nur in einigen Kategorien einen signifikanten Einfluß auf die Homocysteinkonzentrationen. Unterschiede gegenüber der höchsten Zufuhrkategorie (> 5.0 µg/d) waren nur in den Kategorien mit einer täglichen Cobalaminzufuhr unter 1.5 µg, unter 3.5 µg und unter 4.0 µg/d zu erkennen; in diesen Kategorien waren die Homocysteinkonzentrationen signifikant höher als bei einer Cobalaminzufuhr über 5.0 µg/d. Eine Cobalaminzufuhr über 4.0 µg/d bewirkte kein weiteres signifikantes Absinken der Homocysteinkonzentrationen. Eine vegetarische Ernährungsform hatte unabhängig von der Folat- und Cobalaminzufuhr keinen weiteren signifikanten Einfluß auf die Homocysteinkonzentrationen. Die mittleren Homocysteinkonzentrationen in Abhängigkeit von der Cobalamin- und Folatzufuhr in Zufuhrkategorien sind in Abb. 8.18 dargestellt.

**Tab. 8.15: Unstandardisierte Regressionskoeffizienten (B)<sup>1</sup> für die kategorisierte Folat- bzw. Cobalaminzufuhr bei den Homocysteinkonzentrationen**

		Homocystein (µmol/L)	
		B ± SE	Sign.
<b>Trimenon:</b>	1	1 <sup>2</sup>	-
	2	- 0.707 ± 0.291	0.016
	3	- 0.281 ± 0.301	0.352
<b>Folatzufuhr (µg/d):</b>	< 150	1.031 ± 0.359	0.004
	< 200	0.971 ± 0.352	0.006
	< 250	0.703 ± 0.413	0.090
	< 300	0.466 ± 0.536	0.386
	< 350	- 0.837 ± 0.577	0.148
	< 400	- 0.079 ± 0.647	0.903
	> 400	1 <sup>2</sup>	-
<b>Cobalaminzufuhr (µg/d):</b>	< 1.5	2.122 ± 0.458	< 0.0001
	< 2.0	0.711 ± 0.590	0.229
	< 2.5	0.473 ± 0.647	0.465
	< 3.0	0.557 ± 0.456	0.224
	< 3.5	0.989 ± 0.463	0.034
	< 4.0	1.117 ± 0.425	0.009
	< 4.5	- 0.188 ± 0.378	0.619
	< 5.0	0.484 ± 0.454	0.288
	≥ 5.0	1 <sup>2</sup>	-

<sup>1</sup> Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> adj. (Signifikanz F-Test): 0.166 (p < 0.0001)

<sup>2</sup> Referenzwert



**Abb. 8.18: Zusammenhang zwischen Cobalamin- und Folatzufuhr (in Kategorien) und Homocysteinkonzentrationen (Mean ± SEM)**

Zwischen dem Risiko für erhöhte Homocysteinkonzentrationen und der Folat- ( $p = 0.014$ ) bzw. Cobalaminzufuhr ( $p < 0.0001$ ) gab es ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang. Das relative Risiko für erhöhte Homocysteinkonzentrationen sank um den Faktor 0.99 pro  $1 \mu\text{g}$  FFE/d und um den Faktor 0.69 pro  $1 \mu\text{g}$  Cobalamin/d. Einen zusätzlichen signifikanten Einfluß einer vegetarischen Ernährungsform gab es nicht.

Bei Zerlegung der Cobalaminzufuhr in Kategorien mit Schritten von je  $0.5 \mu\text{g/d}$  war das relative Risiko erhöhter Homocysteinkonzentrationen bis zu einer Zufuhr von weniger als  $3.5 \mu\text{g/d}$  in fast allen Kategorien signifikant oder marginal höher als bei einer Zufuhr von über  $5.0 \mu\text{g/d}$ . Bei einer täglichen Cobalaminzufuhr unter  $1.5 \mu\text{g}$  war das Risiko 15.9 mal höher als bei einer Zufuhr von über  $5.0 \mu\text{g}$ . Ab einer Zufuhr von  $4 \mu\text{g/d}$  sind auch keine marginalen Risikoerhöhungen mehr erkennbar. Die Folatzufuhr zeigte bis zu einer täglichen Zufuhr von  $250 \mu\text{g}$  FFE einen signifikanten Einfluß auf das Risiko erhöhter Homocysteinkonzentrationen (Tab. 8.16).

**Tab. 8.16: Relatives Risiko (odds ratio)<sup>1</sup> für erhöhte Homocysteinwerte in Abhängigkeit von der Folat- und Cobalaminzufuhr**

	Odds ratio (CI-95%)	Sign. <sup>2</sup>
<b>Trimenon:</b>		
1	1 <sup>3</sup>	-
2	5.7 (2.4 - 13.6)	< 0.0001
3	0.2 (0.1 - 0.7)	0.011
<b>Folatzufuhr (<math>\mu\text{g/d}</math>):</b>		
< 150	5.8 (0.4 - 84.6)	0.015
< 200	14.5 (1.7 - 125.7)	0.012
< 250	15.7 (1.8 - 133.0)	0.024
< 300	13.1 (1.4 - 123.4)	0.183
< 350	5.8 (0.4 - 78.4)	0.365
< 400	4.0 (0.2 - 78.8)	0.498
> 400	1 <sup>3</sup>	-
<b>Cobalaminzufuhr (<math>\mu\text{g/d}</math>):</b>		
< 1.5	15.9 (4.1 - 62.1)	< 0.0001
< 2.0	2.2 (0.4 - 12.1)	0.346
< 2.5	3.4 (0.6 - 21.0)	0.173
< 3.0	3.2 (0.9 - 11.8)	0.068
< 3.5	6.3 (1.2 - 35.2)	0.034
< 4.0	3.1 (0.9 - 10.9)	0.078
< 4.5	1.9 (0.6 - 6.6)	0.288
< 5.0	2.3 (0.6 - 8.6)	0.232
$\geq 5.0$	1 <sup>3</sup>	-

<sup>1</sup> Hosmer and Lemeshow Goodness-of-Fit test:  $\chi^2 = 2.6232$ ;  $p = 0.9175$ ; korrekte Klassifikation durch das Modell 85.6 %

<sup>2</sup> Signifikanz des unstandardisierten, logistischen Regressionskoeffizienten B, Wald-Statistik

<sup>3</sup> Referenzwert

### 8.7.3.2 Zusammenhänge zwischen Homocysteinkonzentrationen und Lebensmittelverzehr

Anhand der vorliegenden Ergebnisse sind Zusammenhänge zwischen der Verzehrsmenge bestimmter Lebensmittelgruppen und den Homocysteinkonzentrationen nur vereinzelt nachzuweisen. Lediglich die Erhöhung der verzehrten Menge an Milch- und Milchprodukten konnte die Homocysteinkonzentrationen signifikant senken ( $p = 0.003$ ). Auch das Risiko



erhöhter Homocysteinkonzentrationen zeigt marginale Zusammenhänge mit der verzehrten Menge an Milch- und Milchprodukten ( $p = 0.059$ ). Weder der Verzehr von Obst und Gemüse noch der Anteil unerhitzter Frischkost zeigte einen Einfluß.

#### **8.7.4 Sonstige Parameter**

Zwischen der Cobalamin und Folatzufuhr sowie dem Lebensmittelverzehr und den Segmentationszahlen bzw. dem Segmentationsindex konnten keinerlei signifikante Zusammenhänge festgestellt werden. Gleiches gilt für die Hämoglobinkonzentrationen, die Erythrozytenindizes und Erythrozytenzahlen, nachdem sie um den Einfluß des Eisenstatus adjustiert wurden.

## 9 Diskussion

Aus präventivmedizinischer Sicht spricht vieles dafür, den Anteil pflanzlicher Lebensmittel, insbesondere von Gemüse und Obst, in der Ernährung zu steigern (DGE 1998). Das Nutrition Committee der American Heart Association (1996) verweist darauf, daß zur Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen 55-60 % der Nahrungsenergieaufnahme aus Gemüse, Obst und Vollkornprodukten stammen sollten. Das World Cancer Research Fund empfiehlt eine ernährungsphysiologisch ausreichende und abwechslungsreiche Kost zu verzehren, die in erster Linie auf Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs basiert (World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research 1997 S 509ff). Der Verzehr von Vollkornprodukten wird mit einem verminderten Risiko für koronare Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Verbindung gebracht (Anderson und Hanna 1999, Stampfer et al. 1999) Die konsequente Umsetzung internationaler Empfehlungen zur Prävention von ernährungsabhängigen Erkrankungen mündet somit in einer überwiegend ovo-lakto-vegetabilen Kostform wie der Vollwert-Ernährung.

Andererseits wird immer wieder hinterfragt, ob eine vegetarische oder überwiegend vegetarische Ernährung eine bedarfsgerechte Versorgung mit allen Nährstoffen ermöglicht. Besonders in der Schwangerschaft bedarf dies einer sorgfältigen Untersuchung.

Der **Folatbedarf** steigt **während der Schwangerschaft** nicht zuletzt durch die rasche Zellvermehrung stark an. Aufgrund der niedrigen körpereigenen Speichermöglichkeiten führt eine unzureichende Folatversorgung schnell zu niedrigen mütterlichen und fetalen Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten, die mit Komplikationen wie Frühgeburt und niedrigem Geburtsgewicht in Verbindung gebracht werden (Neiger 1993, Roberts et al. 1969, Hibbard und Smithells 1965). Es gibt bisher nur wenig Informationen darüber, wie effektiv sich eine Erhöhung der Folatzufuhr durch den vermehrten Verzehr folatreicher Lebensmittel auf den Folatstatus auswirkt. Die Effizienz von Folaten aus Lebensmitteln wird häufig mit der Effizienz von reiner Folsäure aus Supplementen verglichen, ohne die unterschiedliche Bioverfügbarkeit von Folsäure und Folaten aus Lebensmitteln zu berücksichtigen (Cuskelly et al. 1996). Obwohl viele Ernährungsrichtlinien den Verzehr von folatreichen Lebensmitteln zur Optimierung des Folatstatus empfehlen, mangelt es an Untersuchungen über die Effizienz einer solchen Empfehlung während der Schwangerschaft.

Die **Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub>** steht im menschlichen Organismus in enger Verbindung mit dem Folatstoffwechsel. Bei einer in Deutschland üblichen Mischkost wird die Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> als unproblematisch angesehen; die tägliche Zufuhr übersteigt den Bedarf in der Regel bei weitem. Es gibt aber nur unzureichende Informationen darüber, wie die Versorgung schwangerer Frauen mit Vitamin B<sub>12</sub> bei einer überwiegend vegetarischen Ernährung zu beurteilen ist. Schätzungen des Vitamin-B<sub>12</sub>-Bedarfes während der Schwan-

gerschaft beruhen meist auf Ergebnissen von Untersuchungen, die bei einer Population mit ausreichend gefüllten Vitamin-B<sub>12</sub>-Speichern durchgeführt wurden und es ist bisher weitgehend ungeklärt, wie hoch der tatsächliche Vitamin-B<sub>12</sub>-Bedarf während der Schwangerschaft ist.

In der vorliegenden Arbeit wird ein umfassendes Bild des Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus schwangerer Frauen gegeben und die Auswirkung des Kostform auf den Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus dargestellt.

Die **Ergebnisse** der vorliegenden Untersuchung zeigen, daß eine langfristig praktizierte Vollwert-Ernährung mit einem hohen Verzehr von Gemüse, Obst und unerhitzter Frischkost zu einer Verbesserung des Folatstatus und damit zu einem **verringerten Risiko von Folatmangel** während der Schwangerschaft führt. Die Ergebnisse zeigen aber auch, daß eine langfristige ovo-lakto-vegetabile Ernährung in der Schwangerschaft mit einem **erhöhten Risiko für einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel** sowie höheren Homocysteinkonzentrationen verbunden ist.

## 9.1 Bewertung des Lebensmittelverzehrs

Die VWK, die in dieser Studie untersucht wurde, haben Vollwert-Ernährung im Durchschnitt über  $8 \pm$  Jahre praktiziert. Der Lebensmittelverzehr der VWK unterscheidet sich gegenüber der CG besonders durch einen höheren Verzehr von Vollkornprodukten, Gemüse und Obst. Der Verzehr von Vollkornprodukten der VWK ist 4-5 mal so hoch wie der Verzehr der CG. Der Quotient Weißmehlprodukte : Vollkornprodukten beträgt im Durchschnitt bei den OLV 0.3, bei den NVEG 0.5 und bei der CG 5.9 und unterscheidet die Untersuchungsgruppen deutlich voneinander. Der Gemüse- und Obstverzehr der VWK ist etwa 1.6 bis 1.9 mal höher als bei der CG. Ein bedeutender Teil des Obstes und Gemüses wird in Form von unerhitzter Frischkost verzehrt. Fleisch und Fisch spielt in der Ernährung der NVEG eine sehr viel geringere Rolle als bei der CG, die OLV vermeiden diese Lebensmittel definitionsgemäß ganz. Der Verzehr von Milch und Milchprodukten unterscheidet sich zwischen OLV, NVEG und CG nicht signifikant. Bei den OLV ist aber eine erheblich größere Streuung der Verzehrsmengen zu beobachten; eine große Zahl OLV mit einem sehr niedrigen Verzehr an Milchprodukten steht einer großen Zahl mit einem sehr hohen Verzehr gegenüber. Die 25. Perzentile des Milchprodukteverzehrs der OLV ist nur etwa halb so groß wie die der NVEG und der CG.

Das Kollektiv der Nationalen Verzehrstudie (NVS) verzehrte pro Tag 135 g Gemüse und Hülsenfrüchte sowie 95 g Obst. Die CG der vorliegenden Studie zeigt dagegen einen

erheblich höheren Verzehr an Gemüse und Obst, die Ernährung der CG ist damit als günstiger einzuschätzen als dies bei einer in Deutschland üblichen Mischkost der Fall ist. Dies wird bei einer Selbstrekrutierung der Teilnehmer in Studien mit ernährungsbezogenen Themen häufiger beobachtet (Margetts 1991). Es ist zu erwarten, daß die Unterschiede zwischen den Kostgruppen noch größer wären, wenn die CG einer repräsentativen Stichprobe entsprechen würde.

Die Vegetarierinnen der Berliner Vegetarier-Studie verzehren im Vergleich zu den OLV und NVEG weniger Gemüse (262 g/d) und Obst (287 g/d). Der Verzehr an Milch und Milchprodukten der Vegetarierinnen entspricht mit 328 g/d dem der NVEG. Der Verzehr der Nicht-Vegetarierinnen entspricht dagegen in Gemüse- (184 g/d) und Obstverzehr (205 g/d) in etwa der CG der vorliegenden Studie; sie verzehren aber mehr Milch und Milchprodukte (283 g/d) sowie Fleisch, Wurst und Fleischwaren (143 g/d) (Rottka et al. 1989).

Die deutsche Gesellschaft für Ernährung (1998) empfiehlt für den täglichen Verzehr eine Portion gegartes Gemüse (etwa 200 g), 1 Portion rohes Gemüse (etwa 100 g) und 1 Portion Salat (etwa 75 g) sowie mindestens 2 Stück oder 2 Portionen Obst. Diesen Empfehlungen kommen die OLV am nächsten, gefolgt von den NVEG. Die Empfehlungen der DGE, täglich etwa 340 g Milchprodukte in Form von Käse und Milch zu verzehren, erreicht keine der Kostgruppen. Die CG verzehrt aber deutlich mehr Fleisch und Wurstwaren als die von der DGE empfohlene Menge von maximal 85 g.

Zusammenfassend betrachtet liegen die VWK den Empfehlungen für eine gesunde Ernährung sehr viel näher als die CG. Sowohl OLV als auch NVEG erreichen die empfohlene Gemüsemenge aber nicht ganz. Der Verzehr an Milch und Milchprodukten der OLV liegt deutlich unter den empfohlenen Mengen.

## 9.2 Bewertung der Nährstoffzufuhr anhand von Zufuhrempfehlungen

### 9.2.1 Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr

Die Unterschiede der Untersuchungsgruppen im Lebensmittelverzehr spiegeln sich auch in der Nährstoffzufuhr wieder. Die **Bevorzugung von Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs** und der niedrigere Verzehr von Lebensmitteln tierischen Ursprungs führen zu einer **niedrigeren Zufuhr an Cobalamin bei OLV und NVEG** gegenüber der CG. Die OLV nehmen etwa 2.5 µg/d, die NVEG 3.8 µg/d und die CG 5.3 µg/d mit der Nahrung auf. Bei den OLV und NVEG ist die Zufuhr im ersten Trimenon der Schwangerschaft mit 1.8 bzw. 3.2 µg/d niedriger als in den beiden anderen Trimenen. **Hauptquellen** für Vitamin B<sub>12</sub> waren bei den

OLV und NVEG Milch und Milchprodukte, bei der CG Fleisch und Wurstwaren sowie Milch und Milchprodukte.

Nur etwa die Hälfte der OLV erreichen die **Zufuhrempfehlungen** für Vitamin B<sub>12</sub> des IOM (1998) und nur etwa  $\frac{1}{3}$  der OLV erreichen die Empfehlungen der DGE (1991). Ungefähr  $\frac{1}{4}$  der OLV haben eine tägliche Cobalaminzufuhr, die sogar unterhalb der Empfehlungen der WHO für schwangere Frauen liegt und kommen damit in Bereiche, in denen eine ausreichende Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> nicht mehr sichergestellt ist. Dagegen erreichen über 80 % der NVEG und fast alle Personen der CG die Zufuhrempfehlungen für Cobalamin des IOM (1998), die EAR des IOM werden bei den NVEG und der CG von fast allen Teilnehmerinnen erfüllt.

Bei einer **üblichen Mischkost** liegt die Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr häufig über den Zufuhrempfehlungen. In der VERA-Studie wurde eine mittlere Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr (Median) von 4,4 µg/d bei Frauen ermittelt (Heseker et al. 1994a), in der NVS von 4.7 µg/d (DGE 1996). Die durchschnittliche Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr von jungen erwachsenen Frauen liegt in den USA bei 3 µg/d, in Canada bei etwa 4 µg/d (IOM 1998). Nach Allen und Casterline (1994) werden von gesunden Erwachsenen durchschnittlich 2 - 6 µg/d Vitamin B<sub>12</sub> mit der Nahrung zugeführt, nach Herbert (1987) zwischen 5 - 15 µg Vitamin B<sub>12</sub> pro Tag bei omnivoren Amerikanern.

Bei einer **vegetarischen Ernährung** liegt die Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr allgemein niedriger als bei einer üblichen Mischkost. In der Berliner Vegetarier-Studie wurde bei Vegetarierinnen eine tägliche Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr von durchschnittlich 2,2 µg ermittelt; Nichtvegetarierinnen nahmen im Vergleich dazu durchschnittlich 4,8 µg/d auf ( $p \leq 0,001$ ) (Rottka et al. 1988). Vegetarierinnen verzehrten definitionsgemäß einmal pro Monat Fleisch, Geflügel, Fisch oder Wurstwaren/Schinken (max. 2 der genannten Lebensmittelgruppen) und entsprechen daher eher den hier untersuchten nichtvegetarischen Vollwertköstlerinnen.

In England wurde bei Ovo-Lakto-Vegetarierinnen eine Cobalaminzufuhr von 1.8 µg/d und bei Veganerinnen eine Zufuhr von 0.6 µg/d ermittelt. Personen, die lediglich kein rotes Fleisch aßen (in etwa vergleichbar mit den hier untersuchten NVEG), hatten eine mittlere Zufuhr von 3.1 µg/d. Die Vergleichsgruppe aus einer nationalen Studie zeigte eine Aufnahme von 6.0 µg/d (Draper et al. 1993). Alexander et al. (1994) beobachteten ebenfalls eine niedrigere Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr bei Vegetariern im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median 1,7 gegenüber 3,5 µg/d). Harman et al. (1998) ermittelten bei neuseeländischen Vegetarierinnen (7-Tage-Adventisten) eine Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr von 1,1 µg/d gegenüber 2,4 µg/d bei nicht-vegetarisch lebenden Frauen. Als Vitamin-B<sub>12</sub>-Quellen dienten den Vegetarierinnen Milch und Milchprodukte, Eier und Backwaren.

Zusammenfassend kann die **Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr der NVEG und der CG als ausreichend bis sehr gut** bezeichnet werden. Die **Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr der OLV** entsprach den Beobachtungen anderer Studien und war bei vielen Teilnehmerinnen **zu niedrig**. In der Schwangerschaft muß daher für die OLV von einem erhöhten Risiko für einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel ausgegangen werden. Besonders im ersten Trimenon, in dem ein Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel besonders schwerwiegend für die Gesundheit des Fetus sein kann, war die Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr am niedrigsten. Bei einer ovo-lakto-vegetarischen Ernährungsweise sollte daher besonders in der ersten Zeit der Schwangerschaft auf einen ausreichenden Verzehr von Milch und Milchprodukten geachtet werden. Sollte dies aufgrund von Übelkeit und Erbrechen, wie sie in dieser Zeit bei vielen schwangeren Frauen vorkommt, nicht möglich sein, muß auch eine Supplementation mit Vitamin B<sub>12</sub> in Erwägung gezogen werden.

### 9.2.2 Folatzufuhr

Die Bevorzugung von Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs mit einer hohen Nährstoffdichte führte bei den **VWK zu einer höheren absoluten Zufuhr an Folaten als in der CG**. Die OLV nahmen durchschnittlich 350 µg DFE/d bzw. 173 µg FFE/d mit der Nahrung auf, die NVEG 347 µg DFE/d bzw. 166 µg FFE/d und die CG 319 µg DFE/d bzw. 140 µg FFE/d. Die Unterschiede zwischen den Kostgruppen sind wesentlich stärker bei der Berechnung der Folatzufuhr in FFE als bei der Berechnung in DFE zu erkennen. Die Folatzufuhr berechnet als FFE korreliert stärker mit den Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten als die Folatzufuhr berechnet als DFE oder Gesamtfolat.

**Hauptquellen** für die Folatzufuhr waren bei allen 3 Kostgruppen Backwaren, Obst, Gemüse und Milchprodukte.

Nur ein geringer Teil der Studienteilnehmerinnen erreicht die **Zufuhrempfehlungen** der DGE (1991) und die RDA (IOM 1998) für Folat. Auch die wesentlich niedrigeren europäischen Empfehlungen werden nur von etwa  $\frac{1}{3}$  der VWK und  $\frac{1}{4}$  der CG erreicht.

In der VERA-Studie wurde eine mittlere Folatzufuhr (Median) von 160 µg DFE/d bei Frauen ermittelt (Heseker et al. 1994a), in der NVS von 199 µg DFE/d bzw. 87 µg FFE/d (DGE 1996). In England wurde bei jungen Frauen eine Folatzufuhr in Höhe von 285 µg DFE/d berechnet (Wild et al. 1996). Nach Mackey und Picciano (1999) werden von schwangeren Frauen durchschnittlich 380 µg DFE/d mit der Nahrung zugeführt. Bei schwangeren Frauen mit niedrigem Einkommen wurde in den USA eine Zufuhr von 284 µg DFE/d ermittelt (Scholl

et al. 1996). Cuskelly et al. (1996) berichten bei Schwangeren von einer durchschnittlichen Folatzufuhr mit der Nahrung von 209 µg DFE/d und Huber et al. (1988) von 257 µg DFE/d. Bei Vegetarierinnen wurde in der Berliner Vegetarierstudie eine Folsäurezufuhr von 220 µg DFE/d berechnet (Rottka et al. 1989). Alexander et al. (1994) beobachteten in Neuseeland bei Vegetarierinnen mit 455 µg DFE/d eine höhere Folataufnahme als bei Nicht-Vegetarierinnen mit 343 µg DFE/d. Die Aufnahme der veganen Untersuchungsgruppe war mit 471 µg DFE/d am höchsten. Die Folatzufuhr der CG der vorliegenden Studie liegt damit ebenso wie der Obst und Gemüseverzehr im Vergleich mit den Ergebnissen der NVS höher als der Bundesdurchschnitt. Im internationalen Vergleich liegen die Zufuhrdaten der NVS jedoch sehr niedrig. Die Zufuhrmengen der CG entsprechen aber den Beobachtungen anderer internationaler Arbeitsgruppen bei einer üblichen Mischkost.

Die **Folatzufuhr der VWK ist besser zu beurteilen** als die Folatzufuhr der CG. Die OLV hatten eine geringfügig höhere absolute Folatzufuhr als die NVEG, aber eine deutlich höhere Nährstoffdichte. Wie die Ergebnisse der Blutuntersuchungen zeigen, ist bei den OLV die Folatversorgung offenbar ausreichend, um das Auftreten eines Folatmangels - bei ausreichender Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> und damit dem Ausschluß eines funktionellen Folatmangels - weitgehend zu verhindern. Die Folatzufuhr der OLV und der NVEG entspricht aber nicht den Empfehlungen wie sie für die Prävention von Neuralrohrdefekten ausgesprochen wird. Wie verschiedene Studien zeigen, ist eine Folatzufuhr in Höhe von 600 µg/d geeignet, die Inzidenz von Neuralrohrdefekten zu senken (MRC 1991, Czeizel et al. 1992, Daly et al. 1995). Diese Zufuhrhöhe wird nur von wenigen OLV und NVEG erreicht.

### 9.3 Eignung der gemessenen Blutparameter für die Bewertung des Nährstoffstatus in der Schwangerschaft

Die meisten der zur Verfügung stehenden Vitamin-B<sub>12</sub>-Parameter werden im Blutplasma gemessen und unterliegen damit schwangerschaftsbedingten Veränderungen durch die fortschreitende Hämodilution. Für die meisten Blutparameter des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status gibt es keine etablierten **Grenzwerte** und die nur teilweise vorhandenen Grenzwert-Vorschläge werden meist nicht der besonderen Situation der Schwangerschaft gerecht. Die Cobalaminzufuhr der CG ist im Vergleich zu nationalen und internationalen Zufuhrempfehlungen als ausreichend bis sehr gut anzusehen; ein zufuhrbedingter Mangel kann daher ausgeschlossen werden. Deshalb wurde zur Grenzwert-Berechnung bei allen Vitamin-B<sub>12</sub>-Parametern die 5. Perzentile der Kontrollgruppe verwendet. Durch diese Vorgehensweise ist eine direkte Beurteilung der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen möglich und eine Bewertung ist nicht mehr von schwangerschaftsbedingten Veränderungen beeinflusst. Die meisten ermittelten Grenzwerte im ersten Trimenon liegen im Bereich der Grenzwert-Angaben anderer Studien für erwachsene Männer und Frauen (Tab. 9.1). Die holo-Hap-Konzentrationen liegen aber deutlich über den von Herbert (1994) angegebenen Vergleichswerten, die Hap-Sättigung ist sogar doppelt so hoch.

**Tab. 9.1: Vergleich der Grenzwerte im ersten Trimenon, die anhand der Kontrollgruppe für Schwangere ermittelt wurden, mit Referenzwerten aus der Literatur**

Parameter	5. Perzentile der CG im 1. Trimenon	Grenzwert für erwachsene Frauen <sup>1</sup>
Erythrozyten-Vitamin-B <sub>12</sub> (pmol/L)	122	133
Serum-Vitamin-B <sub>12</sub> (pmol/L)	146	148
holo-TC II (pmol/L)	0	10
holo-Hap (pmol/L)	134	111
TC-II-Sättigung (%)	0	4
Hap-Sättigung (%)	40	20
TBBC-Sättigung (%)	11	15

<sup>1</sup> Quellen siehe Kap. 5

Die **Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentration im Erythrozyten** korrelierten nur schwach mit der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentration im Serum. Sie zeigen aber ähnlich wie die Folatkonzentrationen einen Anstieg im Schwangerschaftsverlauf und einen deutlichen negativen Zusammenhang mit den Homocysteinkonzentrationen. Es kann daher davon ausgegangen werden, daß sinkende Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten erst ein relativ spätes Stadium der Vitamin-B<sub>12</sub>-Depletion oder des Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels darstellen. Die Bereiche der hier im ersten Trimenon gemessenen Werte bewegen sich in der gleichen Höhe wie die von Herbert (1994) berichteten Erythrozyten-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen (Tab. 9.1).



In einer anderen Studie wurde eine durchschnittliche Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentration im Erythrozyten von  $178 \pm 38$  pmol/L bei hämatologisch unauffälligen Erwachsenen gemessen (Tisman et al. 1993). Als Grenzwert werden dort ebenfalls Konzentrationen unter 133 pmol/L angegeben. Wie bei den meisten Parametern des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status gibt es bisher keine Vergleichswerte für schwangere Frauen. Die Methode zur Messung von Vitamin-B<sub>12</sub> im Erythrozyten wurde bisher nur selten eingesetzt, Vergleichsmethoden existieren ebenfalls nicht. Daher sind methodische Probleme bei der Bestimmung von Vitamin B<sub>12</sub> im Erythrozyten bisher nur ungenügend validiert worden.

Die **empfindlichsten Parameter zur Beurteilung des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status** scheinen **Serum-Vitamin-B<sub>12</sub> und holo-Hap** zu sein. Serum-B<sub>12</sub> besteht aus den Fraktionen holo-TC II und holo-Hap. Dabei macht holo-Hap die größte Fraktion der gesamten Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen aus. Die holo-TC-II-Konzentrationen scheinen einem starken schwangerschaftsbedingtem Abfall zu unterliegen. Während im ersten Trimenon noch deutliche Unterschiede in den holo-TC-II-Konzentrationen der einzelnen Kostgruppen zu erkennen sind, die die Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr widerspiegeln, fallen die Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft bei allen Kostgruppen auf das gleiche Niveau ab.

Die **holo-TC-II-Konzentrationen** werden von Herbert (1994) als bester Indikator für ein frühes Stadium der Vitamin-B<sub>12</sub>-Depletion bezeichnet. In der Schwangerschaft scheint dieser Parameter dagegen keine Aussage über die Versorgungslage des Organismus mit Vitamin B<sub>12</sub> zu geben, da sie auch bei einer ausreichenden Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> bereits früh in der Schwangerschaft gegen null absinken. Eine ähnliche Beobachtung machten auch Wickramasinghe und Ratnayaka (1996). Sie kamen zu dem Schluß, daß die holo-TC-II-Konzentrationen für die differenzierte Diagnose einer makrozytären Anämie nur von sehr begrenzter Aussagekraft ist. Niedrige Konzentrationen seien weniger als Zeichen einer negativen Vitamin-B<sub>12</sub>-Bilanz zu werten, sondern seien ein Zeichen einer erhöhten Utilisation infolge einer erythrozytären Hyperplasie. Auch in der Schwangerschaft könnte ein erhöhter Umsatz an Vitamin B<sub>12</sub> vorliegen, was zu rasch sinkenden Konzentrationen an holo-TC II führen würde, da die TC-II-gebundene Fraktion des Serum-Vitamin B<sub>12</sub> für die Versorgung der Zellen mit Vitamin B<sub>12</sub> zuständig ist. Auch die steigenden Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten bestätigen diese Vermutung.

Da es sich bei der holo-Hap-Fraktion um die gesamte Vitamin B<sub>12</sub>-Menge im Blut abzüglich der holo-TC-II-Konzentrationen handelt, ist dieser Parameter ein gleichwertiger oder besserer Indikator für den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status als die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen.

**Ungesättigte Transcobalamine** scheinen dagegen nicht so gut geeignet, den Status während der Schwangerschaft wiederzugeben, da sie schwangerschaftsbedingt stark ansteigen. In den vorliegenden Daten wurden lediglich die apo-Hap-Konzentrationen von der Kostform

beeinflusst. Die Unterschiede aufgrund einer unterschiedlichen Versorgungslage können von starken schwangerschaftsbedingten Konzentrationsänderungen möglicherweise überlagert werden. Starke schwangerschaftsbedingte Änderungen der ungesättigten Transcobalaminfraktionen sowie der UBBC wurden auch in anderen Studien beobachtet (Fernandez-Costa und Metz 1982, Zamorano et al. 1985, Bloomfield et al. 1973). In der vorliegenden Studie zeigten sich aber teilweise marginale Zusammenhänge, die darauf schließen lassen, daß die Konzentrationen der ungesättigten Transcobalamine bei niedrigen Konzentrationen der gesättigten Transcobalamin-Fractionen ansteigen.

Die **Vitamin-B<sub>12</sub>-Sättigungskapazitäten** zeigten eine befriedigende Korrelation mit anderen Parametern und geben weiteren Aufschluß über das Stadium des Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels. Die Einteilung nach Herbert (1994) in die Mangelstadien 1 - 4 erfolgt aufgrund der Kombination bestimmter Mangelsymptome (Abb. 9.1) und wurde bisher nicht auf Gültigkeit in der besonderen Situation der Schwangerschaft überprüft. Die vorliegenden Daten zeigen, daß auch in der Schwangerschaft die Kombination bestimmter Mangelanzeichen auf ein mehr oder weniger fortgeschrittenes Stadium des Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels hinweisen; eine Einteilung in die von Herbert verwendeten Kategorien war aufgrund der vorliegenden Daten nicht möglich. Nicht immer treffen alle Symptome in der theoretisch erarbeiteten Reihenfolge ein. Für eine genaue Beurteilung der Zusammenhänge zwischen der fortschreitenden Vitamin-B<sub>12</sub>-Depletion und den Körperspeichern in der Schwangerschaft sind weitere Untersuchungen mit einem größeren Kollektiv notwendig.

Die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen, die eine **TBBC-Sättigung** unterhalb des Grenzwertes hatten, lagen signifikant niedriger als die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen, deren TBBC-Sättigung oberhalb des Grenzwertes lag. Die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen, mit einer TBBC-Sättigung und eine Hap-Sättigung unterhalb des Grenzwertes unterschieden sich signifikant von den Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen der Studienteilnehmerinnen, bei denen nur eine TBBC-Sättigung unterhalb des Grenzwertes lagen. Rückschlüsse aus diesem fortgeschrittenerem Stadium des Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels auf das Vorliegen einer makrozytären Anämie konnten aus den vorliegenden Daten nicht bestätigt werden.

Die Anzahl der Teilnehmerinnen mit Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen und holo-Hap-Konzentrationen unterhalb des Grenzwertes deckt sich weitgehend mit der Anzahl der Teilnehmerinnen, die erhöhte Homocysteinkonzentrationen aufweisen. Die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum scheinen daher ebenso wie die holo-Hap-Konzentrationen geeignet zu sein einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel in der Schwangerschaft wiederzugeben.

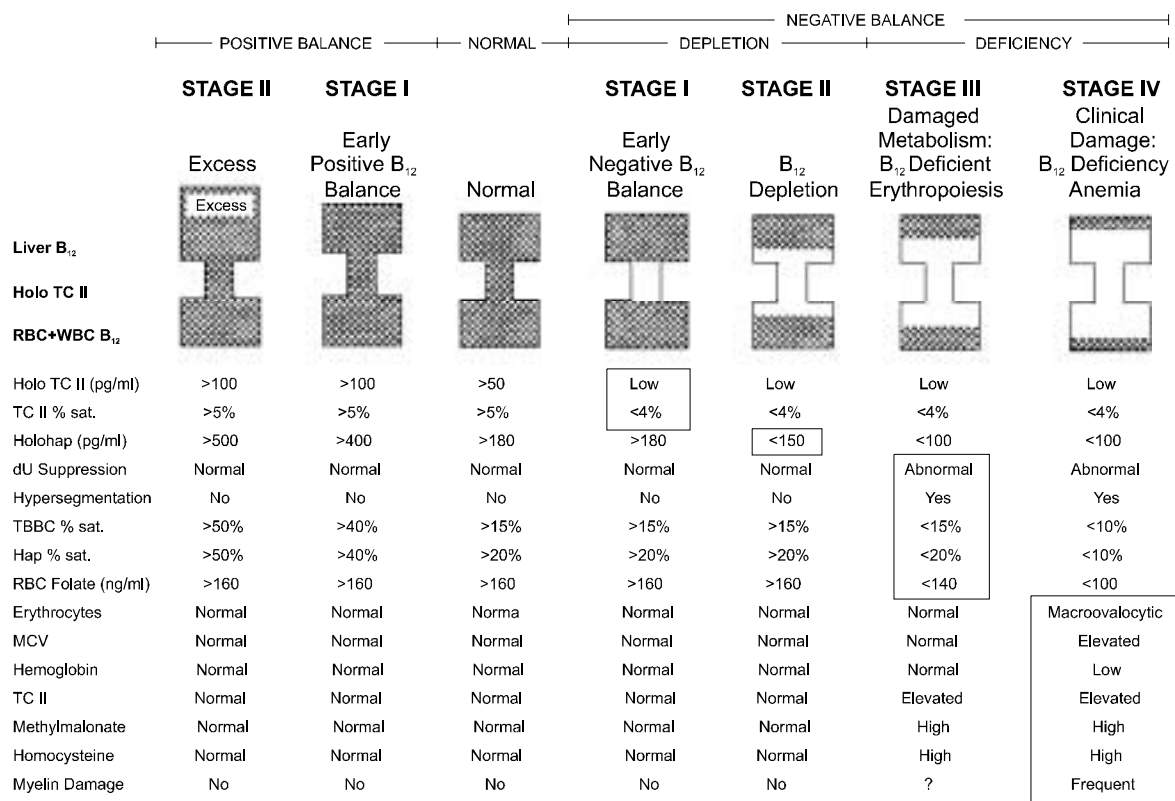


Abb. 9.1: Stadien des Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels nach Herbert (1994)

Für die Beurteilung der Folatkonzentrationen stehen Vergleichswerte anderer Arbeitsgruppen zur Verfügung auf die in dieser Studie zurückgegriffen wurde. Die CG war aufgrund der niedrigen Folatzufuhr zur Berechnung von Referenzwerten nicht geeignet. Die Gruppe der VWK kam dazu aufgrund der niedrigen Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr und möglicher Auswirkungen auf den Folatstatus ebenfalls nicht in Frage.

Ein Abfall der Plasma-Folatkonzentrationen wie in der vorliegenden Untersuchung wurde auch von Hall et al. (1976) beobachtet und kann zumindest teilweise mit der Hämodilution erklärt werden. Die Folatkonzentrationen im Erythrozyten gelten als bester Indikator der langfristigen Folatversorgung (Wu et al. 1975, Kirke et al. 1993, IOM 1998). Sie geben die übliche Folatzufuhr und den Zustand der Gewebespeicher wieder (Shane 1995) und werden nicht wie die Plasma-Folatkonzentrationen durch Hämodilution beeinträchtigt.

## 9.4 Bewertung des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status

Der **Vitamin-B<sub>12</sub>-Status** wird **signifikant durch die Ernährungsform beeinflusst**. OLV, NVEG und CG zeigen signifikante Unterschiede in den meisten Parametern des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status. Die niedrige Cobalaminzufuhr der OLV spiegelt sich in den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen in Serum sowie in der prozentualen Transcobalaminsättigung wieder. Die niedrigsten Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum wiesen die OLV auf, gefolgt von den NVEG. Auch die prozentuale Sättigung der Hap-Fraktion sowie die Gesamtsättigung war bei den OLV niedriger als bei den NVEG und der CG. Die Konzentrationen an apo-Hap dagegen waren bei den OLV am höchsten, gefolgt von den NVEG und der CG. Bei den holo-TC-II- sowie bei den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten waren keine Einflüsse der Kostform zu beobachten. Die ungesättigten Transcobalaminkonzentrationen zeigten lediglich starke schwangerschaftsbedingte Einflüsse und waren nicht geeignet, Aussagen über die Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> zu machen.

Keinen Einfluß hatte dagegen die Dauer der Vollwert-Ernährung bzw. der vegetarischen Ernährung auf die Parameter des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status. In anderen Studien wurde dagegen ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Dauer einer vegetarischen Ernährung und dem Vitamin-B<sub>12</sub>-Status festgestellt (Vesey et al. 1990, Tungtrongchitr et al. 1993). Die Teilnehmerinnen in der vorliegenden Studie praktizierten eine Vollwert-Ernährung bereits über einen längeren Zeitraum, im Durchschnitt seit etwa 8 Jahren. Zusammen mit den schwangerschaftsbedingten Einflüssen und einer geringen Gruppengröße kann dies dazu führen, daß keine linearen oder nicht-linearen Zusammenhänge mehr feststellbar sind.

Alle Parameter wurden signifikant durch das **Trimenon der Schwangerschaft** beeinflusst. Bei den OLV sanken die Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum im dritten Trimenon auf 77 % der Konzentrationen im ersten Trimenon ab. Die Konzentrationen der NVEG sinken auf 75 %, die der CG auf etwa 70 % ab. Sinkende Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Schwangerschaftsverlauf wurden ebenfalls in anderen Studien beobachtet (Allen 1994, Bartels et al. 1989, Fernandez-Costa und Metz 1982). Der Abfall beginnt bereits im ersten Trimenon (Fernandez-Costa und Metz 1982).

In einer longitudinal angelegten Untersuchung von 23 niederländischen schwangeren Frauen, die mit 65 nicht schwangeren Frauen verglichen wurden, sanken die Serum-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen bereits gegen Ende des ersten Trimenons signifikant ab. Dieser Abfall konnte nicht durch die zu dieser Zeit erst moderat einsetzende Hämodilution erklärt werden (Bartels et al. 1989). Ein weiterer Abfall der Konzentrationen auf ungefähr 50 % des Niveaus von nicht schwangeren Frauen wurde bis zum 7. Schwangerschaftsmonat beobachtet (Bartels et al. 1989). Der prozentuale Abfall, der in der vorliegenden Studie

gemessen wurde, war bei allen Kostgruppen geringer als bei Bartels et al. (1989). Dies ist auch dadurch zu erklären, daß der erste Meßzeitpunkt gegen Ende des ersten Trimenons lag; also zu einem Zeitpunkt, zu dem Bartels et al. bereits signifikante Veränderungen der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Blut feststellten. Die Stärke des Konzentrationsabfalls scheint aber trotzdem von der Versorgungslage zu Beginn der Schwangerschaft abhängig zu sein.

Einen **Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel** hatten in der vorliegenden Studie 44% der OLV, 16 % der NVEG und 8 % der CG. Eine erniedrigte TBBC-Sättigung kam bei 28 % der OLV, 9 % der NVEG und 7 % der CG vor und einer erniedrigte Hap-Sättigung bei 22 % der OLV, 3 % der NVEG und 2 % der CG. Das Risiko einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel während der Schwangerschaft zu entwickeln war für die OLV 9.2 mal so hoch wie für die CG, für die NVEG 2.3 so hoch.

In der VERA-Studie (Heseker et al. 1994) lag die mittlere Plasma-Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentration der Frauen bei 287 pmol/L. Diese Beobachtungen sind etwas höher als die Werte der CG der vorliegenden Studie im ersten Trimenon, bei denen aber bereits eine beginnende Plasmaverdünnung zu berücksichtigen ist.

Bei Vegetarierinnen in Thailand wurden Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum von 113 pmol/L gemessen gegenüber 369 pmol/L in der weiblichen Kontrollgruppe (Tungtrongchitr et al. 1993). Millet et al. (1989) beobachteten bei Vegetarierinnen Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum von 223 pmol/L gegenüber 328 pmol/L bei Nicht-Vegetarierinnen und vermuteten ein höheres Risiko für einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel bei den Vegetarierinnen.

Die Vitamin-B<sub>12</sub>-Versorgung gilt neben der Folatversorgung als **unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung von Neuralrohrdefekten** (Kirke et al. 1993). Steen et al. (1998) beobachteten bei Schwangerschaften mit Neuralrohrdefekten signifikant niedrigere Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Fruchtwasser als bei normalen Schwangerschaften (111 pmol/L vs. 398 pmol/L) und sehen einen direkten Zusammenhang mit den daraus resultierenden steigenden Homocysteinkonzentrationen in der fetoplazentären Einheit. In dem untersuchten Kollektiv vermuten die Autoren einen Defekt in der Homocystein-Remethylierung und der Funktion der Methioninsynthetase. Das Produkt/Substrat-Verhältnis der Homocystein-Remethylierung unterschied sich signifikant von dem der Kontrollgruppe. Ein Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel kann ebenso wie ein genetischer Defekt zu einer eingeschränkten Funktionsfähigkeit der Methioninsynthetase führen. Sowohl ein relativer Methioninmangel als auch der Mangel an Tetrahydrofolat, das durch die gleiche Vitamin-B<sub>12</sub>-abhängige Reaktion gebildet wird, gelten unabhängig voneinander als Einflußfaktoren bei der Entstehung von Neuralrohrdefekten, verlangsamten Wachstum des Fetus und anderen Schwangerschaftskomplikationen (Steen et al. 1998, Mills et al. 1995, Walker et al. 1999)

Bei den vorliegenden Daten konnte ein signifikanter **Zusammenhang zwischen den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum und der Cobalaminzufuhr** beobachtet werden. Die Cobalaminzufuhr zeigte aber nur bis zu einer Höhe von **4 µg/d** einen positiven Einfluß. Dieser Grenzwert traf sowohl für die gesamten Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum als auch auf die holo-Hap-Fraktion zu.

Den größten Anteil der Streuung der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum konnte nach Berücksichtigung des Einflusses durch die Einnahme von Vitamin-B<sub>12</sub>-Supplementen durch die Verzehrsmenge an Milch und Milchprodukten (25.0 %) erklärt werden, gefolgt vom Fleischverzehr (18.9 %) und von der verzehrten Menge an Eiern (15.3 %). Alle anderen Lebensmittelgruppen zeigten keinen signifikanten Einfluß, auch nicht die mit Vitamin B<sub>12</sub> angereicherten Multivitaminsäfte.

## 9.5 Bewertung des Folatstatus

Die unterschiedlichen Ernährungsweisen der Untersuchungsgruppen und die damit verbundenen unterschiedliche Folatzufuhr wirkt sich deutlich auf den Folatstatus aus. Die Kostgruppen unterscheiden sich signifikant hinsichtlich der Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten. Die **höchsten mittleren Folatkonzentrationen** in Plasma und Erythrozyten wurden **bei den OLV** gemessen, gefolgt von den NVEG. Beide Parameter wurden signifikant durch das Trimenon der Schwangerschaft beeinflusst. Sinkende Plasma-Folatkonzentrationen und steigende Erythrozyten-Folatkonzentrationen im Schwangerschaftsverlauf wurden ebenfalls in anderen Studien beobachtet (Cuskelly et al. 1996, Hall et al. 1976).

In allen Kostgruppen steigen die Folatkonzentrationen im Erythrozyten nach dem ersten Trimenon an, am stärksten bei den OLV. Dieser Anstieg wird signifikant durch die Häufigkeit von Übelkeit und Erbrechen im ersten Trimenon beeinflusst und läßt eine Depletion während des ersten Trimenons der Schwangerschaft vermuten.

Wie in anderen Studien festgestellt wurde, sind die Erythrozyten-Folatkonzentrationen bei Frauen mit Neuralrohrdefekt-Schwangerschaften niedriger als bei normalen Schwangerschaften (Czeizel et al. 1992, Werler et al. 1993, Laurence et al. 1981). Daly et al. (1995) beobachteten, daß Erythrozyten-Folatkonzentrationen in der 15. SSW unter 340 nmol/L mit einem 8-fach erhöhtem Risiko für Neuralrohrdefekte beim Fetus verbunden war als Erythrozyten-Folatkonzentrationen von 906 nmol/L oder höher.

In der vorliegenden Studie war das **Risiko eines Folatmangels**, definiert als Erythrozyten-Folatkonzentrationen unter 320 nmol/L (IOM 1998), bei den OLV und NVEG signifikant niedriger als in der CG. Im gesamten Schwangerschaftsverlauf wurde ein Folatmangel bei 7.5 % der OLV, bei 20.3 % der NVEG und bei 29.0 % der CG beobachtet. Im ersten

Trimenon trat ein Folatmangel bei 15.4 % der OLV, bei 25.0 % der NVEG und bei 30.0 % der CG auf. Während die Häufigkeit eines Folatmangels bei der CG in allen Trimenen nahezu gleichbleibend war, trat ein Folatmangel bei den OLV überwiegend im ersten Trimenon auf, obwohl sich Folatzufuhr kaum verändert hat. Nur 6.3 % der OLV im zweiten Trimenon und keine der OLV im dritten Trimenon hatte einen Folatmangel.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen einen **positiven Einfluß einer langfristig praktizierten Vollwert-Ernährung auf den Folatstatus** und lassen einen präventiven Effekt für das Auftreten von Neuralrohrdefekten vermuten. Das tatsächliche Risiko kann aufgrund der vorliegenden Daten nicht berechnet werden, da nur die Folatversorgung in den ersten sechs Wochen der Schwangerschaft - also bevor sich das Neuralrohr des Fetus schließt - entscheidend ist (MRC 1991, Czeizel 1992) und die hier vorgenommene Messung erst in der 10. - 12. SSW stattfand. Berücksichtigt man die Beeinflussung des Folatstatus durch das Auftreten von Übelkeit und Erbrechen, die üblicherweise erst nach der 6. SSW auftreten, könnten der präventive Effekt für einen Folatmangel größer sein als der in dieser Studie gemessene Effekt.

Sowohl die mittleren Folatkonzentrationen im Erythrozyten als auch die Häufigkeit von Folatmangel unterschieden sich signifikant bei OLV und NVEG, obwohl diese einen ähnlichen Lebensmittelverzehr und eine ähnliche absolute Folatzufuhr während der Schwangerschaft aufwiesen. Diese Unterschiede können nur auf die unterschiedliche Kostform zurückgeführt werden. Eventuell spielt dabei auch die unterschiedliche Nährstoffdichte von OLV und NVEG und der unterschiedlichen Verzehr an unerhitzter Frischkost sowie Hülsenfrüchten und Sojaprodukten eine Rolle. Ein statistischer Zusammenhang war dafür aber nicht nachweisbar.

Im **Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel** ist die Aufnahme von Folat in die Zellen herabgesetzt, da dazu die Demethylierung von 5-Methyl-Tetrahydrofolat zu Tetrahydrofolat durch das Enzym Methioninsynthetase notwendig ist (Mills et al. 1995). Das führt zu einer Anreicherung von Folaten im Plasma und zu erniedrigten Folatkonzentrationen im Erythrozyten (Bar-Sella et al. 1990, Dagnelie et al. 1989, Chanarin et al. 1974, Shane und Stokstad 1985, Tisman und Herbert 1973). Erniedrigte Folatkonzentrationen im Erythrozyten gelten daher als Indikator für eine eingeschränkte Funktion der Methioninsynthetase (Mills et al. 1995). Erhöhte Plasma-Folatkonzentrationen wurden auch bei makrobiotischen Kindern beobachtet, die an einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel litten (Dagnelie et al. 1989), sowie bei Langzeit-Veganern (Bar-Sella et al. 1990).

In der vorliegenden Studie konnte ein positiver Zusammenhang zwischen den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum und den Folatkonzentrationen im Erythrozyten festgestellt werden. Bei den OLV korrelierten die Folatkonzentrationen im Erythrozyten ebenfalls positiv mit der Vitamin-B<sub>12</sub>-Aufnahme. Ein Folatmangel wurde nur bei einer OLV beobachtet, deren

Cobalaminzufuhr über den EAR für Vitamin B<sub>12</sub> lagen und bei keiner OLV mit einer Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr über 3.0 µg/d. Da ein Folsäuremangel bei den OLV mit einer besonders hohen Aufnahme an Folat und einer besonders niedrigen Aufnahme an Vitamin B<sub>12</sub> verbunden war, muß in diesen Fällen von einem **funktionellen Folsäuremangel** infolge eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels ausgegangen werden.

Erhöhte Folatkonzentrationen im Plasma konnten bei einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel in der vorliegenden Studie nicht festgestellt werden. Die Hämodilution und ein erhöhter Folatumsatz könnte ebenso wie eine erhöhte Folatausscheidung während der Schwangerschaft (O'Connor 1994) dafür verantwortlich sein.

Die vorliegenden Daten zeigen einen signifikanten **Zusammenhang zwischen den Folatkonzentrationen im Erythrozyten und der Folatzufuhr**. Ebenso gab es einen signifikanten Einfluß der Cobalaminzufuhr. Ab einer Folatzufuhr von über **300 µg FFE/d** konnte keine Verbesserung der Folatkonzentrationen im Erythrozyten mehr festgestellt werden. Bei einer durchschnittlichen Bioverfügbarkeit von 50 % entspricht dies einer Menge von etwa 600 µg Gesamtfolat pro Tag, also den derzeitigen Empfehlungen von DGE (1993) und IOM (1998). Die **Cobalaminzufuhr** zeigte nur bis zu einer Höhe von 4 µg/d einen Einfluß. Dieser Grenzwert deckt sich mit dem beobachteten Grenzwert für den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status.

Auf der **Lebensmittelebene** konnte der größte Anteil der Streuung der Folatkonzentrationen im Erythrozyten, nach Berücksichtigung des Einflusses durch Vitamin-B<sub>12</sub>-Supplemente, durch die Verzehrsmenge an Milch und Milchprodukten (18.5 %) erklärt werden, gefolgt vom Verzehr an Multivitaminsäften (17.8 %). Der Anteil der erklärten Varianz war aber nur geringfügig. Allen anderen Lebensmittelgruppen zeigten allein keinen signifikanten Einfluß. Die Kombination des Verzehrs am Gemüse, Obst und Hülsenfrüchten, Milch und Milchprodukten, Fleisch und Fisch und Multivitaminsäften sowie des Frischkostanteils war am besten in der Lage einen signifikanten Anteil der Streuung zu erklären (21.1 %). Die verzehrte Obstmenge hatte dabei einen negativen Einfluß, alle anderen einen positiven.

Offenbar wird die Streuung der Folatkonzentrationen im Erythrozyten am besten durch bestimmte Verzehrsmuster erklärt. Die Kostform als Ganzes hatte einen signifikanten Einfluß auf die Folatkonzentrationen im Erythrozyten, der aufgrund der vorliegenden Daten nicht auf einzelne Lebensmittelgruppen zurückgeführt werden kann.



## 9.6 Bewertung der Homocysteinkonzentrationen

Die VWK und davon besonders die OLV zeigten eine wesentlich bessere Versorgung mit Folsäure, aber eine schlechtere Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub>. Um die Versorgungslage wirklich beurteilen und die Auswirkung dieser Versorgungslage auf den Organismus einschätzen zu können, müssen funktionelle Parameter wie die Homocysteinkonzentrationen herangezogen werden.

Die **Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die Homocysteinkonzentrationen**. Besonders im ersten Trimenon lagen die **OLV am höchsten**, gefolgt von den NVEG und der CG. Gegen Ende der Schwangerschaft unterschieden sich die Konzentrationen dagegen kaum. Die Verläufe der Homocysteinkonzentrationen verhielten sich bei den einzelnen Kostgruppen nicht konform. Bei den NVEG und der CG sanken die Homocysteinkonzentrationen nach dem ersten Trimenon ab. Dieses Absinken kann durch die einsetzende Hämodilution erklärt werden. Bei den OLV sanken die Homocysteinkonzentrationen dagegen erst nach dem zweiten Trimenon leicht ab, während zu diesem Zeitpunkt bei NVEG und CG bereits wieder ein Anstieg zu beobachten war. Homocysteinkonzentrationen außerhalb des Normalbereiches kamen am häufigsten bei den OLV vor. Das **Risiko für erhöhte Homocysteinkonzentrationen** war für OLV 4.6 mal und für NVEG 2.2 mal so hoch wie für die CG.

Ein **Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel** wirkte sich ebenso wie ein **Folatmangel** negativ auf die Homocysteinkonzentrationen aus. Die höchsten Homocysteinkonzentrationen wurden bei den Teilnehmerinnen gemessen, die sowohl einen Vitamin-B<sub>12</sub>- als auch einen Folatmangel hatten. Die Bestimmungsfaktoren für die Homocysteinkonzentrationen unterschieden sich innerhalb der Kostgruppen. Während für die OLV sowohl der Vitamin-B<sub>12</sub>- als auch die Folatstatus eine Rolle spielte, hatte bei NVEG und CG lediglich der Folatstatus einen signifikanten Einfluß auf die Homocysteinkonzentrationen.

**Erhöhte Homocysteinkonzentrationen** werden bei Schwangerschaften mit Neuralrohrdefekten beobachtet und können sowohl Folge eines Vitamin-B<sub>12</sub>- als auch eines Folatmangels sein (Mills et al. 1995, Kirke et al. 1993). Homocystein gilt jedoch nicht per se als unabhängiger Risikofaktor für ein erhöhtes Risiko für Neuralrohrdefekte. Es ist vielmehr ein Indikator für eine eingeschränkte Methioninsynthetase-Funktion (Mills et al. 1996).

In der Schwangerschaft werden erhöhte Homocysteinkonzentrationen aber mit einer erhöhten Thrombosegefahr, vorzeitiger Plazentalösung, Präeklampsie, eingeschränktem intrauterinen Wachstum des Fetus und wiederholten Fehlgeburten in Verbindung gebracht (Rajkovic et al. 1997, Goddijn-Wessel et al. 1996, den Heijer et al. 1996, Dekker et al. 1995, Wouters et al. 1993, Burke et al. 1992).

Ähnlich den Ergebnissen der vorliegenden Studie beobachteten auch Walker et al. (1999) bei normalen Schwangerschaften einen **Abfall der Homocysteinkonzentrationen** zwischen dem ersten und zweiten Trimester sowie einen Anstieg zwischen dem zweiten und dritten Trimester. Der Verlauf der Homocysteinkonzentrationen der OLV widerspricht dieser Beobachtung und legt die Vermutung nahe, daß bei den OLV bereits zu einem frühen Zeitpunkt die Auswirkungen des Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels und damit der eingeschränkten Umwandlung von Homocystein zu Methionin gegenüber den Effekten der Plasmaverdünnung überwiegt. Da besonders die Homocysteinkonzentrationen der OLV im ersten Trimenon erhöht sind, muß diese Tatsache als ernsthaftes Risiko für Aborte, Neuralrohrdefekte und andere Schwangerschaftskomplikationen betrachtet werden.

Die vorliegenden Daten zeigen einen signifikanten **Zusammenhang zwischen den Homocysteinkonzentrationen und der Folatezufuhr**. Ebenso gab es einen signifikanten Einfluß der **Cobalaminzufuhr**. Ab einer Folatezufuhr von über 250 µg FFE/d konnte keine Verbesserung der Folatekonzentrationen im Erythrozyten mehr festgestellt werden. Die Cobalaminzufuhr zeigte bis zu einer Höhe von 4 µg/d einen Einfluß. Dieser Grenzwert deckt sich mit dem beobachteten Grenzwert für den Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatestatus.

Auf der **Lebensmittelebene** konnte außer der verzehrten Menge an Milch und Milchprodukten keine andere Lebensmittelgruppe noch bestimmte Verzehrsmuster signifikante Streuungsanteile erklären. Nur die Kostform als Ganzes zeigte einen signifikanten Einfluß auf die Homocysteinkonzentrationen.

## 9.7 Auswirkungen der Kostform auf die Granulozytensegmentation und weitere hämatologische Parameter

Die mittlere **Segmentation der neutrophilen Granulozyten** lag am höchsten bei der CG, gefolgt von den NVEG und am niedrigsten bei den OLV. Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die Segmentation. Das Risiko erhöhter Segmentationszahlen unterschied sich zwischen den Kostgruppen aber nicht signifikant. Zwischen Cobalamin- bzw. Folatezufuhr oder dem Verzehr bestimmter Lebensmittel konnte kein Zusammenhang festgestellt werden.

Die Kostform zeigte einen signifikanten Einfluß auf die **Hämoglobinkonzentrationen**. Die mittleren Hämoglobinkonzentrationen lagen auch nach einer Adjustierung für den Einfluß des Eisenstatus am höchsten bei der CG, gefolgt von den NVEG und den OLV. Obwohl keine signifikanten Einflüsse des Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatestatus nachgewiesen werden konnte,

waren die Hämoglobinkonzentrationen der Teilnehmerinnen mit einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel signifikant niedriger als bei den Teilnehmerinnen ohne Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel. Auch die **Erythrozytenzahlen** der Teilnehmerinnen mit einem Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel lagen signifikant niedriger als die Erythrozytenzahlen der Teilnehmerinnen ohne Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel. Die Bestimmung eines Grenzwertes, bis zu welcher Höhe die Zufuhr an Vitamin B<sub>12</sub> einen Einfluß auf die Hämoglobinkonzentrationen und die Erythrozytenzahlen hatte, war nicht möglich.

Zusammenhänge zwischen den **Erythrozytenindizes** MCV, MCH und MCHC und der Kostform, die auf einen unterschiedlichen Vitamin-B<sub>12</sub>- oder Folatstatus zurückzuführen waren, konnten nicht festgestellt werden. Die Beobachtung von Caretti et al. (1993), die einen direkten Einfluß der Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum und den MCHC-Werte feststellen konnten, wurde anhand der vorliegenden Daten nicht bestätigt.

## 9.8 Bewertung der bestehenden Zufuhrempfehlungen für schwangere Frauen

### 9.8.1 Vitamin B<sub>12</sub>

Bei den vorliegenden Daten konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Cobalaminzufuhr und den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum sowie den Folatkonzentrationen im Erythrozyten und den Homocysteinkonzentrationen beobachtet werden. Die **Cobalaminzufuhr** zeigte auf alle Parameter aber nur **bis zu einer Höhe von 4 µg/d** einen Einfluß.

In den USA wurde bei Frauen, die eine vegane Ernährung über einen relativ kurzen Zeitraum (30 Monate) praktizierten, bereits erniedrigte Konzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> im Serum und Muttermilch festgestellt, die stark miteinander korrelierten (Specker et al. 1990). Dieser relativ kurze Zeitraum steht der Beobachtung gegenüber, daß vorhandene Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher über einen Zeitraum von 5 - 10 Jahre reichen sollen. Es wird daher vermutet, daß auch die Cobalaminzufuhr während Schwangerschaft und Stillzeit einen Einfluß auf die Serum-Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen und die Sekretion in die Muttermilch haben (Allen LH 1994, Specker et al. 1990). Diese Beobachtung bestätigten auch Sneed et al. (1981). Der Anteil an Vitamin B<sub>12</sub>, der vom Fetus während der Schwangerschaft gespeichert wird, ist eine der wichtigsten Bestimmungsgrößen für den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status während des Säuglingsalters (Sadowitz et al. 1986).

Die **Zufuhrempfehlungen** für die Schwangerschaft beruhen aufgrund eines Mangels an wissenschaftlichen Daten auf theoretischen Schätzungen, die zum einen den Bedarf des

Fetus und zum anderen einen erhöhten Bedarf der Mutter während der Schwangerschaft berücksichtigen. Der Fetus benötigt während der Schwangerschaft für den Aufbau eigener Speicher etwa 0,1 - 0,2 µg Vitamin B<sub>12</sub>/d (Baker et al. 1962, Loria et al. 1977, Vaz Pinto et al. 1975). Es gibt einige Hinweise darauf, daß die Effizienz der Vitamin-B<sub>12</sub>-Absorption während der Schwangerschaft steigt (Robertson und Gallagher 1983, Brown et al. 1977); ein erhöhter Bedarf der Mutter wurde bisher nicht angenommen.

Die vorliegenden Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß der **Vitamin-B<sub>12</sub>-Bedarf während der Schwangerschaft** bisher unterschätzt wurde, da ausreichend gefüllte Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher bis zu einer bestimmten Grenze für einen Ausgleich bei einer unter dem Bedarf liegenden Cobalaminzufuhr sorgen können. Eine optimale Cobalaminzufuhr scheint bei etwa 4 µg/d zu liegen. Ab dieser Zufuhr ist keine Verbesserung des Vitamin-B<sub>12</sub>- und Folatstatus mehr zu beobachten. Auch die Homocysteinkonzentrationen können durch eine höhere Zufuhr nicht weiter gesenkt werden. Besonders für Frauen, die eine vegetarische Ernährung praktizieren wird daher aufgrund der geringeren Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher eine Cobalaminzufuhr von 4 µg/d empfohlen. Zur Deckung des Cobalaminbedarfes scheinen alle Lebensmittel tierischen Ursprungs geeignet zu sein. Lakto-Vegetarierinnen können ihren Bedarf daher auch über Milch und Milchprodukte decken.

Da die Cobalaminzufuhr bei einer üblichen Mischkost ohnehin meist weit über 4 µg/d liegt, wird weiterhin empfohlen, die Empfehlungen für die Cobalaminzufuhr während der Schwangerschaft generell auf 4 µg/d anzuheben.

### 9.8.2 Folat

Die vorliegenden Daten zeigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Folatzufuhr und den Folat-Konzentrationen im Erythrozyten sowie den Homocysteinkonzentrationen. Ab einer **Folatzufuhr von über 300 µg FFE/d** konnte keine Verbesserung der Folatkonzentrationen im Erythrozyten mehr festgestellt werden. Bei einer durchschnittlichen Bioverfügbarkeit von 50 % entspricht dies einer Menge von etwa 600 µg Gesamtfolat pro Tag, also den derzeitigen Empfehlungen von DGE (1993) und IOM (1998) für schwangere Frauen. Auf die Homocysteinkonzentrationen hatte die Folatzufuhr nur bis zu einer Zufuhrmenge von 250 µg/d einen signifikanten Einfluß.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie decken sich mit den Beobachtungen und Berechnungen von Interventionsstudien, die den Folatbedarf aufgrund unterschiedlicher Dosierungen von synthetischer Folsäure geschätzt haben (IOM 1998, Caudill et al. 1997, O'Keefe

et al. 1995). Eine **optimale Folatezufuhr** während der Schwangerschaft sollte bei etwa 600 µg Gesamtfolat pro Tag liegen.

### 9.8.3 Die Einführung der „Dietary folate equivalents“ - für Deutschland ein Gewinn?

Cuskelly et al. (1996) untersuchten die **Effizienz einer Erhöhung der Folatezufuhr** aus Lebensmitteln im Vergleich zur Effizienz von Folsäure aus Supplementen und stellten fest, daß eine Erhöhung der Folatezufuhr aus Lebensmitteln nur eine unzureichende Verbesserung des Folatstatus mit sich bringt. Die unterschiedliche Bioverfügbarkeit von Nahrungsfolaten gegenüber reiner Folsäure ging nicht in die Auswertung ein und sorgte so für eine Verzerrung der Ergebnisse, da 100 µg Gesamtfolat dann mit 100 µg reiner Folsäure gleichgestellt sind. Um solche Mißverständnisse in Zukunft zu vermeiden, ist die **Unterscheidung von Nahrungsfolaten und synthetischer Folsäure** unabdingbar.

In den Zufuhrempfehlungen der DGE wurden im Gegensatz zu den meisten internationalen Empfehlungen die unterschiedliche Bioverfügbarkeit von Nahrungsfolaten durch die Angabe von **Zufuhrempfehlungen für Gesamtfolat und freie Folsäureäquivalente** bereits früher berücksichtigt. Mit den neuen RDA des IOM (1998) wurde der Begriff „**dietary folate equivalents**“ (**DFE**) neu eingeführt, die alle Formen von Folat in Äquivalente von Nahrungsfolat konvertieren. Die Berechnung basiert auf der geschätzten durchschnittlichen Bioverfügbarkeit von Nahrungsfolaten. Bisher ist aber wenig über die Bioverfügbarkeit von Folaten aus unterschiedlichen Kostformen bekannt (Gregory 1997). Über die hohe Bioverfügbarkeit von synthetischer Folsäure wie sie in Supplementen oder für eine Lebensmittelanreicherung benutzt wird, gibt es dagegen eine Vielzahl von Studien (Cuskelly et al. 1996, Czeizel et al. 1992, MRC 1991).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, daß der **Folatstatus** stärker mit der Folatezufuhr berechnet als FFE als mit der Zufuhr berechnet als DFE korreliert (FFE = freies Folat +  $0.2 \times$  gebundenes Folat, BGVV 1996). FFE korrelieren besser mit dem Folatstatus und berücksichtigen auch die unterschiedliche Bioverfügbarkeit von Folaten aus verschiedenen Lebensmitteln. Bei einem Vergleich verschiedener Kostformen, in denen bestimmte Lebensmittelgruppen unterschiedlich stark vertreten sind und damit die durchschnittliche Bioverfügbarkeit der Kost variieren kann, ist dies von großer Bedeutung.

Die **Angabe von Äquivalenten** wird auch bei der Erfassung anderer Vitamine wie Retinol und Niacin verwendet. Bei diesen Vitaminen wird aber der Vitamingehalt von Lebensmitteln in Äquivalente der Vitaminform der höchsten Bioverfügbarkeit konvertiert. Das Neue bei der Einführung der DFE ist eine Berechnung von Äquivalenten in der umgekehrten Richtung: synthetische Folsäure wird in Äquivalente von Nahrungsfolaten konvertiert. Ein durchschnittlicher Umrechnungsfaktor wurde also benutzt, um freie Folsäure(äquivalente) in Nahrungsfolat umzurechnen.

Der Folatbedarf, der aufgrund Studien mit synthetischer Folsäure ermittelt und geschätzt wurde, wird nun für die Zufuhrempfehlungen ebenfalls mit Hilfe dieses Umrechnungsfaktors in einen Bedarf an Nahrungsfolat umgerechnet. Das Ergebnis sind Zufuhrempfehlungen, die auf der Annahme einer durchschnittlichen Bioverfügbarkeit beruhen und unter Umständen eine adäquate Versorgung bei bestimmten Kostzusammensetzungen mit einer schlechteren Bioverfügbarkeit nicht mehr gewährleisten. Ebenfalls unberücksichtigt bleibt dabei die steigende durchschnittliche Bioverfügbarkeit von Folat durch den steigenden Verzehr von Lebensmitteln, die mit Folat angereichert wurden. Hier führt die neue Berechnung in DFE zu einer Unterschätzung der tatsächlichen Folataufnahme.

Auch in Deutschland wird nun im Rahmen der internationalen Harmonisierung gefordert die Berechnungsweise des IOM (1998) zu übernehmen (Hages et al. 1999). Eine Berechnung der Zufuhrempfehlungen in Form von freiem Folat oder freien Folatäquivalenten, wie sie in Deutschland bereits üblich ist, bringt ein sehr viel geringeres Risiko von Fehleinschätzungen mit sich.

## 9.9 Schlußfolgerungen und Empfehlungen

Die vorliegende Studie zeigt, daß die Kostform einen signifikanten Einfluß auf den Vitamin B<sub>12</sub> und Folatstatus schwangerer Frauen hat.

Eine Vollwert-Ernährung, die sich durch eine hohen Zufuhr von folatreichem Gemüse und einen hohen Frischkostanteil auszeichnet, kann den Folatstatus verbessern und das **Risiko eines Folatmangels** reduzieren. Diese Ernährungsweise mit einer hohen Folatzufuhr kann langfristig als effektive Möglichkeit zur Optimierung des Folatstatus und zur Reduzierung des Risikos für einen Folatmangel während der Schwangerschaft empfohlen werden. Die optimale Folatzufuhr liegt nach den vorliegenden Ergebnissen bei etwa 300 µg FFE/d und deckt sich mit den internationalen Empfehlungen.

Eine überwiegend vegetarische Ernährung, die über einen langen Zeitraum praktiziert wurde, kann aber auch ein **Risiko für einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel** während der Schwangerschaft darstellen und zu einem funktionellen Folsäuremangel sowie erhöhten Homocystein-konzentrationen führen. Um die Aufnahme von Folat in die Zellen zu erhöhen und damit eine adäquate intrazelluläre Folatversorgung zu gewährleisten, sollten Vegetarierinnen besonders auf eine ausreichende Vitamin-B<sub>12</sub>-Versorgung achten und regelmäßig ausreichend Milch und Milchprodukte und eventuell Fisch verzehren. Multivitaminsäfte, die mit Vitamin B<sub>12</sub> angereichert sind, scheinen dagegen keine sinnvolle Ergänzung zu sein, da sie nun einen relativ geringen Einfluß auf den Vitamin-B<sub>12</sub>-Status haben.

Die optimale Cobalaminzufuhr liegt bei etwa 4 µg/d und ist besonders für Vegetarierinnen während der Schwangerschaft zum Ausgleich für entleerte Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher wichtig. Folatsupplemente sollten bei Vegetarierinnen immer in einem kombinierten Präparat mit Vitamin B<sub>12</sub> eingenommen werden, um die Aufnahme von Folat in die Zellen zu erhöhen und, das Risiko zu vermindern, die Symptome eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels zu verdecken. In den ersten Wochen der Schwangerschaft, bei auftretender Schwangerschaftsübelkeit und bei einem geringem Verzehr von Milch und Milchprodukten sollte bei Vegetarierinnen eine generelle Supplementation mit Vitamin B<sub>12</sub> in Erwägung gezogen werden.

## 10 Zusammenfassung

Die **Vollwert-Ernährung** folgt im wesentlichen den internationalen Empfehlungen für eine gesunde Ernährungsweise und ist durch einen hohen Verzehr an Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft und einen hohen Verzehr von unerhitzter Frischkost sowie Vollkornprodukten gekennzeichnet. Gleichzeitig wird bei dieser Ernährungsweise gegenüber der herkömmlichen Ernährung der Verzehr von Fleisch und Eiern stark eingeschränkt. Es stellt sich die Frage, ob die Vollwert-Ernährung auch für eine Gruppe mit einem erhöhten Bedarf, wie sie schwangere Frauen darstellen, eine ausreichende Versorgung gewährleisten kann. Dabei spielt die Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure eine besondere Rolle, da sie mit dem Auftreten von Neuralrohrdefekten, niedrigem Geburtsgewicht, verzögertem fetalen Wachstum, unzureichender Ausbildung des fetalen Nervensystems und dem Auftreten von Anämien in Verbindung gebracht werden.

Die vorliegende Studie ist als **prospektive longitudinale Kohortenstudie** angelegt, in der sowohl ein Fragebogen als auch ein Ernährungsprotokoll und ein Schwangerschaftstagebuch als Instrumente eingesetzt wurden. Darüber hinaus wurden Blutuntersuchungen durchgeführt. In die Studie aufgenommen wurden Frauen, die mindestens zwei Jahre Vollwert-Ernährung praktizieren (VWK; n = 76), und Frauen, die sich etwa gemäß dem Bundesdurchschnitt ernähren (CG; n = 43). Die VWK wurden zusätzlich in Ovo-Lakto-Vegetarierinnen (OLV; n = 30) und Nicht-Vegetarierinnen (NVEG; n = 46) unterteilt.

Zur Erfassung von Lebensmittelverzehr und Nährstoffaufnahme wurde in jedem Schwangerschaftstrimenon (9.-12., 20.-22. und 36.-38. Schwangerschaftswoche) ein geschlossenes 4-Tage-**Ernährungsprotokoll** geführt. Als Grundlage der Nährwertberechnungen diente der Bundeslebensmittelschlüssel BLS Version II.2 (BGVV 1996).

Das Ernährungsprotokoll wurde jeweils von einer **Blutentnahme** begleitet, um die Entwicklung biochemisch-klinischer Parameter im Schwangerschaftsverlauf zu erfassen. Bestimmt wurden die Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum und Erythrozyten sowie die gesättigten Vitamin-B<sub>12</sub>-Fraktionen holo-Transcobalamin II (holo-TC II) und holo-Haptocorrin (holo-Hap). Zusätzlich wurden die ungesättigte Vitamin B<sub>12</sub> Bindungskapazität UBBC sowie die einzelnen Transcobalamin-Fraktionen (apo-TC II und apo-TC I/III) gemessen und daraus die prozentualen Sättigungskapazitäten der einzelnen Proteinfractionen errechnet. Zur Erfassung des Folatstatus wurden die Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten bestimmt.



Der **Lebensmittelverzehr** der VWK unterscheidet sich gegenüber der CG besonders durch einen höheren Verzehr von Vollkornprodukten, Gemüse und Obst. Ein bedeutender Teil des Obstes und Gemüses wird in Form von unerhitzter Frischkost verzehrt. Fleisch und Fisch spielt in der Ernährung der NVEG eine sehr viel geringere Rolle als bei der CG, die OLV vermeiden diese Lebensmittel definitionsgemäß ganz.

Die Bevorzugung von Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs und der niedrigere Verzehr von Lebensmitteln tierischen Ursprungs führen zu einer niedrigeren **Zufuhr an Cobalamin** bei OLV und NVEG gegenüber der CG. Die OLV nehmen etwa 2.5 µg/d, die NVEG 3.8 µg/d und die CG 5.3 µg/d mit der Nahrung auf. Nur etwa die Hälfte der OLV erreichen die Zufuhrempfehlungen für Vitamin B<sub>12</sub> des Institute of Medicine (IOM, 1998) und nur etwa  $\frac{1}{3}$  der OLV erreichen die Empfehlungen der DGE (1991). Ungefähr  $\frac{1}{4}$  der OLV haben eine tägliche Cobalaminzufuhr, die sogar unterhalb der Empfehlungen der WHO für schwangere Frauen liegt

Die VWK hatten eine höhere absoluten **Zufuhr an Folat** als die CG. Die OLV nahmen durchschnittlich 350 µg DFE/d bzw. 173 µg FFE/d mit der Nahrung auf, die NVEG 347 µg DFE/d bzw. 166 µg FFE/d und die CG 319 µg DFE/d bzw. 140 µg FFE/d.

Der **Vitamin-B<sub>12</sub>-Status** wird signifikant durch die Ernährungsform beeinflusst. OLV, NVEG und CG zeigen signifikante Unterschiede in den meisten Parametern des Vitamin-B<sub>12</sub>-Status. Die niedrige Cobalaminzufuhr der OLV spiegelte sich in den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen in Serum sowie in der prozentualen Transcobalaminsättigung wieder. Die niedrigsten Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Serum wiesen die OLV auf, gefolgt von den NVEG. Auch die prozentuale Sättigung der Hap-Fraktion sowie die Gesamtsättigung war bei den OLV niedriger als bei den NVEG und der CG. Die Konzentrationen an apo-Hap dagegen waren bei den OLV am höchsten, gefolgt von den NVEG und der CG. Bei den holo-TC-II- sowie bei den Vitamin-B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Erythrozyten waren keine Einflüsse der Kostform zu beobachten. Die ungesättigten Transcobalaminkonzentrationen zeigten lediglich starke schwangerschaftsbedingte Einflüsse und waren nicht geeignet, Aussagen über die Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> zu machen. Einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels hatten in der vorliegenden Studie 44% der OLV, 16 % der NVEG und 8 % der CG. Das Risiko einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel während der Schwangerschaft zu entwickeln war für die OLV 9.2 mal so hoch wie für die CG, für die NVEG 2.3 so hoch.

Die unterschiedlichen Ernährungsweisen der Untersuchungsgruppen und die damit verbundenen unterschiedliche Folatzufuhr wirkt sich deutlich auf den **Folatstatus** aus. Die Kostgruppen unterscheiden sich signifikant hinsichtlich der Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten. Die höchsten mittleren Folatkonzentrationen in Plasma und Erythrozyten wurden bei den OLV gemessen, gefolgt von den NVEG. Im gesamten

Schwangerschaftsverlauf wurde ein Folatmangel bei 7.5 % der OLV, bei 20.3 % der NVEG und bei 29.0 % der CG beobachtet.

Die Kostform hatte einen signifikanten Einfluß auf die **Homocysteinkonzentrationen**. Besonders im ersten Trimenon lagen die OLV am höchsten, gefolgt von den NVEG und der CG. Gegen Ende der Schwangerschaft unterschieden sich die Konzentrationen dagegen kaum. Homocysteinkonzentrationen außerhalb des Normalbereiches kamen am häufigsten bei den OLV vor. Das Risiko für erhöhte Homocysteinkonzentrationen war für OLV 4.6 mal und für NVEG 2.2 mal so hoch wie für die CG. Ein Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel wirkte sich ebenso wie ein Folatmangel negativ auf die Homocysteinkonzentrationen aus. Die höchsten Homocysteinkonzentrationen wurden bei den Teilnehmerinnen gemessen, die sowohl einen Vitamin-B<sub>12</sub>- als auch einen Folatmangel hatten.

Die vorliegende Studie zeigt, daß eine Vollwert-Ernährung, die sich durch eine hohe Zufuhr von folatreichem Gemüse und einen hohen Frischkostanteil auszeichnet, den Folatstatus verbessern und das Risiko eines Folatmangels reduzieren kann. Die optimale Folatzufuhr liegt nach den vorliegenden Ergebnissen bei etwa 300 µg FFE/d und deckt sich mit den internationalen Empfehlungen für die Folatzufuhr während der Schwangerschaft. Die vegetarische Variante der Vollwert-Ernährung kann aber auch ein Risiko für einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel während der Schwangerschaft darstellen und zu einem funktionellen Folsäuremangel sowie erhöhten Homocysteinkonzentrationen führen. Vegetarierinnen sollten besonders auf eine ausreichende Vitamin-B<sub>12</sub>-Versorgung achten und regelmäßig ausreichend Milch und Milchprodukte und eventuell Fisch verzehren. Die optimale Cobalaminzufuhr liegt bei etwa 4 µg/d und ist besonders für Vegetarierinnen während der Schwangerschaft zum Ausgleich für entleerte Vitamin-B<sub>12</sub>-Speicher wichtig. In den ersten Wochen der Schwangerschaft und bei einem geringem Verzehr von Milch und Milchprodukten sollte bei Vegetarierinnen eine generelle Supplementation mit Vitamin B<sub>12</sub> in Erwägung gezogen werden.

## 10 Summary

### Giessen Wholesome Nutrition Study, part II: the effect of diet on vitamin B<sub>12</sub> and folate status during pregnancy

**Wholesome Nutrition** meets international recommendations on food consumption regarding a healthy diet and is characterised by a high consumption of foods of plant origin and a high consumption of raw food as well as whole grain products. At the same time the consumption of meat and eggs is reduced significantly compared to the average diet. The question is, whether Wholesome Nutrition ensures an adequate nutrient supply for persons with a high nutrient requirement such as pregnant women. The supply of vitamin B<sub>12</sub> and folate is of special interest because of the association with the occurrence of neural tube defects, low birth weight, intrauterine growth retardation, delayed maturation of the nervous system and anaemia.

The study conducted was a **prospective longitudinal cohort study** in which a questionnaire, an estimated food record and a pregnancy diary were used as instruments. In addition blood samples were analysed. Women were admitted to the study, when adhering to a Wholesome Nutrition (WN; n = 76) for a minimum of 2 years, or eating an average German diet (CG; n = 43). WN group was subdivided into ovo-lacto vegetarians (OLV; n = 30) and low-meat eaters (LME; n = 46).

Dietary and nutrient intake was assessed in every trimester of pregnancy (9.-12., 20.-22. and 36.-38. gestational week) by an estimated 4-day food record. Nutrient intake was calculated based on the German food code and nutrient data base (BLS Version II.2, BGVV 1996). Folate intake was calculated as free folate equivalents (FFE) as well as dietary folate equivalents (DFE).

The food record was linked to blood samples to assess biochemical parameters throughout pregnancy. Serum and red blood cell (RBC) vitamin B<sub>12</sub> concentrations, vitamin B<sub>12</sub> bound transcobalamin II (holo-TC II) and vitamin B<sub>12</sub> bound haptocorrin (holo-Hap) were analysed. Additionally the unsaturated vitamin B<sub>12</sub> binding capacity (UBBC) and transcobalamins (apo-TC II and apo-TC I/III) were determined to calculate the percentage saturation of the transcobalamins. Folate status was assessed by the measurement of plasma and RBC folate.

The food consumption of WN group and CG differed significantly. WN group consumed more whole grain products, vegetables and fruits than the CG. A high amount of vegetables and fruits were eaten unheated. LME ate less meat and fish than the CG; OLV avoid meat and fish totally.

The preference of foods of plant origin and the low consumption of foods of animal origin lead to a lower dietary intake of cobalamin in OLV and LME than in the CG. The mean dietary intake of cobalamin was 2.5 µg/d for OLV, 3.8 µg/d for LME and 5.3 µg/d for the CG. Only half of the OLV met the recommendations for vitamin B<sub>12</sub> of the Institute of Medicine (1998) and only 1/3 of OLV met the recommendations of the German Nutrition Society (1991). About 1/4 of OLV showed a dietary cobalamin intake below the recommendations for pregnant women of the WHO.

The WN group showed a higher dietary intake of folate than the CG. The mean folate intake was 350 µg DFE/d (173 µg FFE/d) for OLV, 347 µg DFE/d (166 µg FFE/d) for LME and CG 319 µg DFE/d (140 µg FFE/d) for the CG.

The **Vitamin B<sub>12</sub> status** was significantly affected by the diet. OLV, LME and the CG showed significant differences in most biochemical parameters of vitamin B<sub>12</sub> status. Low cobalamin intake of OLV was reflected in low vitamin B<sub>12</sub> concentrations in serum as well as low percentage saturation of transcobalamins. The lowest vitamin B<sub>12</sub> concentrations in serum showed the OLV followed by the LME. Additionally the absolute saturation of haptocorrin as well as the total saturation was lower in OLV than in LME and the CG. The apo-Hap concentrations were highest in OLV, followed by LME and the CG. Holo TC II as well as RBC vitamin B<sub>12</sub> concentrations were not affected by the diet. The unsaturated transcobalamin concentrations were strongly affected by pregnancy and were not ideal for the assessment of vitamin B<sub>12</sub> status during pregnancy. OLV showed a vitamin B<sub>12</sub> deficiency to 44%, LME to 16 % and CG to 8 %. The risk of vitamin B<sub>12</sub> deficiency during pregnancy was higher in OLV (9.2) and LME (2.3) compared to the CG.

The different diets and the different dietary folate intakes also affected **folate status**. The diet groups differed significantly in plasma as well as RBC folate concentrations. The mean folate concentrations in plasma and RBCs were highest in OLV, followed by LME. In the total course of pregnancy folate deficiency was observed in 7.5 % of OLV, in 20.3 % of LME and 29.0 % of the CG.

The diet also significantly affected **homocysteine concentrations**. Especially in the first trimester of pregnancy homocysteine concentrations were highest in OLV, followed by LME and the CG. At the end of pregnancy homocysteine concentrations hardly differed between the diet groups. Homocysteine concentrations above normal range were mostly observed in OLV. The risk for raised homocysteine concentrations was higher for OLV (4.6) and for LME (2.2) than for the CG. Homocysteine concentrations were negatively affected by vitamin B<sub>12</sub> deficiency as well as folate deficiency. Highest homocysteine concentrations were observed in participants with vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency.

The results suggest that Wholesome Nutrition characterised by a high intake of folate-rich vegetables and a high amount of raw food optimises folate status and reduces the risk of folate deficiency during pregnancy. The data also suggest an optimum in folate intake at 300 µg FFE/d, which is similar to the international recommendation for folate intake during pregnancy. On the other hand a vegetarian variant of Wholesome Nutrition may also be a risk for vitamin B<sub>12</sub> deficiency during pregnancy and may lead to a functional folate deficiency as well as raised homocysteine concentrations. Vegetarians should assure an adequate cobalamin intake and a sufficient consumption of dairy products and, if acceptable, fish. The data also suggest an optimum in cobalamin intake at 4 µg/d. A cobalamin intake of 4 µg/d should be met by all vegetarians during pregnancy to compensate low vitamin B<sub>12</sub> storage. In the first weeks of pregnancy and in persons with a low consumption of dairy products a vitamin B<sub>12</sub> supplementation for vegetarian women should be considered.

## 11 Literaturverzeichnis

- Aalderink J, Hoffmann I, Groeneveld M, Leitzmann C: Ergebnisse der Giessener Vollwert-Ernährungs-Studie: Lebensmittelverzehr und Nährstoffaufnahme bei Vollwertköstlerinnen und Mischköstlerinnen. *Ern Umschau* 1994(41):328-335.
- Abad AR, Gregory III JF: Determination of folate bioavailability with a rat bioassay. *J Nutr* 1987(117): 866-73.
- Adams MJ, Khoury MJ, Scanlon KS: Elevated midtrimester serum methylmalonic acid levels as a risk factor for neural tube defects. *Teratol* 1995(51):311-7.
- Aerts van LAGJM, Blom HJ, Deabreu RA: Prevention of neural tube defects by toxicity of L-homocysteine in cultured postimplantation rat embryos. *Teratol* 1994(50):348-60.
- Albert MJ, Mathan VI, Baker SJ: Vitamin B<sub>12</sub> synthesis by human intestinal bacteria. *Nature* 1980(283): 781-2.
- Alexander D, Ball MJ, Mann J: Nutrient intake and haematological status of vegetarians and age-sex matched omnivores. *Eur J Clin Nutr* 1994(48):538-46.
- Allen LH, Casterline J: Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in elderly individuals: diagnosis and requirements. *Am J Clin Nutr* 1994(60):12-4.
- Allen LH: Vitamin B<sub>12</sub> metabolism and status during pregnancy, lactation and infancy. *Adv Exp Med Biol* 1994(352):173-86.
- Allen RH, Majerus PW: Isolation of vitamin B<sub>12</sub> binding proteins using affinity chromatography. III. Purification and properties of human plasma transcobalamin II. *J Biol Chem* 1972(247):7709-17.
- Allen RH, Seetharam B, Podell E, Alpers D H: Effect of proteolytic enzymes on the binding of cobalamin to R protein and intrinsic factor. *J Clin Invest* 1978(61):47-54.
- Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J: Diagnosis of cobalamin deficiency I: Usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990(34):90-8.
- Allen RH: Human vitamin B<sub>12</sub> binding proteins. *Prog Hematol* 1975(9): 57-84.
- Alpers D, Becich M, Tang LH: Intrinsic factor. In: Bhatt HR, James HVT, Besser GM (eds), *Advances in Thomas Addison's Disease*. Journal of Endocrinology Ltd., Bristol (UK) 2<sup>nd</sup> vol 1994:287-92.
- American Dietetic Association (ADA): Position of The American Dietetic Association: vegetarian diets. ADA Position Papers 1999, <http://www.eatright.org/adap1197.html>.
- Amin J, Vu T, Bateman R, Luzko G: Measurement of red cell B<sub>12</sub> and holo-TC II levels: the key to the evaluation of true B<sub>12</sub> deficiency? *Blood* 1992(80):381A (abstract).
- Anderson JW, Hanna TJ: Whole grains and protection against coronary heart disease: what are the active components and mechanisms. *Am J Clin Nutr* 1999(70):307-8.
- Andrews ER; Pratt JM; Brown KL: Molecular recognition in the binding of vitamin B<sub>12</sub> by the cobalamin specific Intrinsic Factor. *FEBS Letters* 1991(281):90-2.
- Angier RB, Boothe JH, Hutchings BL, Mowat JH: Synthesis of a compound identical with the L. casei factor isolated from liver. *Science* 1945(102):227-8.
- Angier RB, Boothe JH, Hutchings BL, Mowat JH: The structure and synthesis of the liver L. casei factor. *Science* 1946(103):667-9.
- Araki A, Sako Y: Determination of free and total homocysteine in human plasma by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatography* 1987(422): 43-52.
- Bailey LB, Mahan CS, Dimperio D: Folic acid and iron status in low-income pregnant adolescents and mature women. *Am J Clin Nutr* 1980(33):1997-2001.
- Bailey LB. Evaluation of a new recommended dietary allowance for folate. *J Am Diet Assoc* 1992(92):463-71.
- Bailey LB: Dietary reference intakes for folate: the debut of dietary folate equivalents. *Nutr Rev* 1998(56):294-9.
- Bailey LB: Factors affecting folate availability. *Food Technol* 1988(42):206-212,238.
- Baker SJ, Jacob E, Rajan KT, Swaminathan SP: Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in pregnancy and the puerperium. *Br Med J* 1962(1):1658-61.
- Barker HA, Weissbach H, Smyth RD: A coenzyme containing pseudovitamin B<sub>12</sub>. *Proc Natl Acad Sci* 1958(44):1093-7.
- Bar-Sella P; Rakover Y; Ratner D. Vitamin B<sub>12</sub> and folate levels in long-term vegans. *Isr J Med Sci* 1990(26):309-12.
- Bartels PC, Helleman PW, Soons JBJ: Investigations of the red cell size-distribution histograms related to folate, vitamin B<sub>12</sub> and iron state in the course of pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 1989(49):763-71.

- Basiotis PP, Welsh SO, Cronin FJ, Kelsay JL, Mertz W: Number of days of food intake records required to estimate individual and group nutrient intakes with defined confidence. *J Nutr* 1987(117):1638-41.
- Bässler KH, Golly I, Loew D, Pietrzik K: Vitamin-Lexikon für Ärzte, Apotheker und Ernährungswissenschaftler. Fischer, Stuttgart, 2. Aufl. 1997.
- Baumslag N, Eldstein T, Metz J: Reduction of incidence of prematurity by folic acid supplementation in pregnancy. *Brit Med J* 1970(1):16-7.
- Beilin LJ: Vegetarian and other complex diets, fats, fiber and hypertension. *Am J Clin Nutr* 1994(59):1130-35S.
- Berg van den H, Dagnelie PC, van Staveren WA: Vitamin B<sub>12</sub> and seaweed. *Lancet* 1988(335):243-4.
- Berk L, Castle WB, Welch AD: Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia; activity of vitamin B<sub>12</sub> as food (extrinsic) factor. *N Engl J Med* 1948(39):911-5.
- Bernstein LH, Gutstein S, Weiner S, Efron G: The absorption and malabsorption of folic acid and its polyglutamates. *Am J Med* 1970(48):570-9.
- Bhandari SD, Gregory III JF: Folic acid, 5-methyltetrahydrofolate and 5-formyltetrahydrofolate exhibit equivalent intestinal absorption, metabolism and in vivo kinetics in rats. *J Nutr* 1992(122):1847-54.
- Bills T, Spatz I: Neutrophilic hypersegmentation as an indicator of incipient folic acid deficiency. *Am J Clin Path* 1977(68):263-7.
- Bingham SA, Gill C, Welch A, Day K, Cassidy A, Khaw KT, Sneyd MJ, Key TJA, Roe L, Day NE: Comparison of dietary assessment methods in nutritional epidemiology: weighted records vs. 24 h recalls, food frequency questionnaires and estimated-diet records. *Br J Nutr* 1994(72):619-43.
- Bingham SA, Nelson M, Paul AA, Haraldsdottir J, Loken EB, Van Staveren WA: Methods for data collection at an individual level. In: Cameron ME, Van Staveren WA (eds), *Manual on methodology for food consumption studies*, Oxford University Press, New York 1988, pp 53-106.
- Bingham SA: Assessment of food consumption and nutrient intake. In Margetts BM, Nelson M (eds), *Design concepts in nutritional epidemiology*. Oxford University Press, New York 1991, pp 153-91.
- Bloomfield FJ, Scott JM, Somerville JJF, Weir DG: Levels in normal, pathological, and foetal sera of the three cobalamins *Irish J Med* 1973(142):51-7.
- Blot I, Papiernik E, Kaltwasser JP, Werner E, Tchernia G: Influence of routine administration of folic acid and iron during pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 1981(12):294-304.
- Blundl G, Jones BG, Rose FA, Tudball N: Homocysteine mediated endothelial cell toxicity and its amelioration. *Atherosclerosis* 1996(122):163-72.
- Boehles H, Arndt S, Ohlenschlaeger U, Beeg T: Maternal plasma homocysteine, placenta status and docosahexaenoic acid concentration in erythrocyte phospholipids of the newborn. *Eur J Pediatr* 1999(158):243-6.
- Bonnette RE, Caudill MA, Boddie AM: Plasma homocysteine concentrations in pregnant and non-pregnant women with controlled folate intake. *Obstet Gynecol* 1998(92):167-70.
- Booth CC, Mollin DL: The site of absorption of vitamin B<sub>12</sub> in man. *Lancet* 1959(1):18-21.
- Bradbeer C, Reynolds PR, Bauler GM, Fernandez MT: A requirement for calcium in the transport of cobalamin across the outer membrane of *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1986(261):2520-23.
- Brown J, Robertson J, Gallagher N: Humoral regulation of vitamin B<sub>12</sub> absorption by pregnant mouse small intestine. *Gastroenterol* 1977(72):881-8.
- Brown JE, Jacobs DR, Hartman TJ, Barosso GM, Stang JS, Gross MD, Zeuske MA: Predictors of red cell folate level in women attempting pregnancy. *J Am Med Assoc* 1997(277):548-52.
- Bruinse HW, van den Berg H, Haspels AA: Maternal serum folacin levels during and after normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995(20):153-8.
- Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BGVV): Schwangere und Frauen mit Kinderwunsch brauchen zusätzlich Folsäure. BGVV-Pressedienst 8/1998.
- Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BGVV): Bundeslebensmittelschlüssel Version II.2, Berlin 1994.
- Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BGVV): Die Bundeslebensmittelschlüssel-Dokumentation, BLS-Anwenderinformation für die Datenbank BLSDAT.dbf, BLS Version II.2, Berlin 1994.
- Bung P, Stein C, Prinz R, Pietrzik K, Schlebusch H, Bauer O, Krebs D: Folic acid supply during pregnancy - results of a prospective longitudinal study. *Geburtsh Frauenheilk* 1993(53): 92-99.
- Callender ST, Spray GH: Latent pernicious anemias. *Br J Haematol* 1962(8):230-40.
- Cardinale GJ, Carty TJ, Abeles RH: Effect of methylmalonyl coenzyme A, a metabolite which accumulates in vitamin B<sub>12</sub> deficiency, on fatty acid synthesis. *J Biol Chem* 1970(245):3771-5.
- Carmel R, Rasmussen K, Jacobsen DW, Green R: Comparison of the deoxyuridine suppression test with serum levels of methylmalonic acid and homocysteine in mild cobalamin deficiency. *Br J Haematol* 1996(93):311-8.

- Carmel R, Ravindranath Y: Congenital transcobalamin II deficiency presenting atypically with a low serum cobalamin level. Studies demonstrating the coexistence of a circulating transcobalamin I (R binding) complex. *Blood* 1984(63):598-605.
- Carretti NG, Eremita AG, Paternoster D, Pellizzari P, Porcelli B, Grella P: The significance of the relationship between serum levels of cobalamin and MCHC during pregnancy. *Clin Exp Obstet Gyn* 1993(1): 20-2.
- Castle WB, Townsend WC, Heath CW: Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. III. The nature of the reaction between normal human gastric juice and beef muscle leading to clinical improvement and increased blood formation similar to the effect of liver feeding. *Am J Med Sci* 1930(180):305-35.
- Castle WB, Townsend WC: Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. II. The effect of the administration to patients with pernicious anemia of beef muscle after incubation with normal human gastric juice. *Am J Med Sci* 1929a(178):764-77.
- Castle WB: Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. I. The effect of the administration to patients with pernicious anemia of the contents of the normal human stomach recovered after the ingestion of beef muscle. *Am J Med Sci* 1929b(178):748-64.
- Caudill MA, Cruz AC, Gregory JF, Hutson AD, Bailey LB: Folate status response to controlled folate intake in pregnant human subjects. *J Nutr* 1997(127):2363-70.
- Centers for Disease Control: Recommendations for the use of folic acid to reduce the number of cases of spina bifida and other neural tube defects. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep* 1992(41):1-7.
- Chanarin I, Metz J: Diagnosis of cobalamin deficiency: a reply. *Br J Haematol* 1998(100):617.
- Chanarin I, Metz J: Diagnosis of cobalamin deficiency: the old and the new. *Br J Haematol* 1997(97): 695-700.
- Chanarin I, Muir M, Hughes A, Hoffbrand AV: Evidence for an intestinal origin of transcobalamin II during vitamin B<sub>12</sub> absorption. *Br Med J* 1978(1):1453-55.
- Chanarin I, Perry J, Lumb M. The biochemical lesion in vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Lancet* 1974(1):1251-2.
- Chanarin I, Rothman D, Ward A, Perry J: Folate status and requirement during pregnancy. *Brit Med J* 1968(2):390-4.
- Chanarin I: Folate and cobalamin. *Clin Haematol* 1985(14):629-41.
- Chanarin I: The megaloblastic anemias. Blackwell, Oxford, 1990a, pp 46-62.
- Chanarin I: The megaloblastic anemias. Blackwell, Oxford 1990b, pp 140-7.
- Chanarin I: The megaloblastic anemias. Blackwell, Oxford, 1990c, pp 23-33.
- Chanarin I: The megaloblastic anemias: Blackwell, Oxford:1968.
- Christensen B, Rosenblatt DS: Effects of folate deficiency on embryonic development. *Baillieres Clin Haematol* 1995(8):617-37.
- Clark NAC, Fisk NM: Compliance with the Department of Health recommendations routine folate prophylaxis to prevent fetal neural tube defects. *Brit J Obstet Gynecol* 1994(101):709-10.
- Clarke R, Daly L, Robinson K: Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991(324):1149-1155.
- Coassolo P, Valentin M, Bourdeaux M, Briand C: Modification of human serum albumin binding of methotrexate by folic acid and certain drugs used in cancer chemotherapy. *Eur J Clin Pharmacol* 1980(17):123-7.
- Colman N: Addition of folic acid to staple foods as a selective nutrition intervention strategy. *Nutr Rev* 1982(40):225-33.
- Combe JS: History of a case of anemia. *Trans R Med Chir Soc Edinb* 1824(1):194-204.
- Craft IL, Mathews DM, Linnell JC: Cobalamins in human pregnancy and lactations. *J Clin Pathol* 1971(24):449-455.
- Craig W: Misleading vitamin B<sub>12</sub> report [letter]. *Issues Veget Dietet* 1997(6):8.
- Cuskelly GJ, McNulty H, Scott JM: Effect of increasing dietary folate on red-cell folate: implications for prevention of neural tube defects. *Lancet* 1996(347):657-9.
- Czeizel AE, Dundas I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 1992(327):1832-5.
- Dagnelie PC, Staveren WA, Vergote FJVRA, Dingjan PG, van den Berg H, Hautvast JGAJ. Increased risk of vitamin B<sub>12</sub> and iron deficiency in infants on macrobiotic diets. *Am J Clin Nutr* 1989(50):818-24.
- Dagnelie PC, van Staveren WA, van den Berg H: Vitamin B<sub>12</sub> from algae appears not to be bioavailable. *Am J Clin Nutr* 1991(53):695-7.
- Daly LE, Kirke PN, Molloy A, Weir DG, Scott JM: Folate levels and neural tube defects - implications for prevention. *J Am Med Assoc* 1995(274):1698-702.
- Das KC, Herbert V, Colman N: Unmasking covert folate deficiency in iron-deficient subjects with neutrophil hypersegmentation: dU suppression tests on lymphocytes and bone marrow. *Br J Haematol* 1978(39):357-75.



- Das KC, Manusselis C, Herbert V: Determination of vitamin B<sub>12</sub> in serum and erythrocytes by radioassay, and holotranscobalamin II and holo-haptocorrin in serum by adsorbing holo-TC II on microfine silicea. *J Nutr Biochem* 1991(2):455-64.
- Das KC, Manusselis C, Herbert V: Simplifying lymphocyte culture and the deoxyuridine suppression test by using whole blood (0,1 ml) instead of separated lymphocytes. *Clin Chem* 1980(26):72-7.
- Department of Health: Folic acid and the prevention of neural tube defects. Report from an expert advisory group. London, Department of Health 1992.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE): Folsäuremangel vor und während der Schwangerschaft kann gefährlich sein. *DGE aktuell* 1997:23.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE): Empfehlungen für die Nährstoffzufuhr. Umschau, Frankfurt/Main 5. überarbeitete Aufl. 1991.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE, Hrsg):-Ernährungsbericht 1996. Frankfurt/Main 1996.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE): Die DGE empfiehlt: Mehr Obst und Gemüse. *DGE Info* 1998(4):54.
- Dhar GJ, Selhub J, Gay C, Rosenberg IH: Characterization of the individual components of intestinal folate transport [abstract]. *Gastroenterol* 1977(72):1049.
- DiGiamolo PM, Huennekens FM: Transport of vitamin B<sub>12</sub> into mouse leukemia cells. *Arch Biochem Biophys* 1975(168):386-93.
- Dillon JC, Phan P, Dubacq JP: Nutritional value of the alga spirulina. In: Simopoulos AP, Plants in human nutrition, *World Rev Nutr Diet* 1995(77):32-44.
- Dix CJ, Hassan IF, Obray HY, Shah R, Wilson G: The transport of vitamin B<sub>12</sub> through polarized monolayers of Caco-2 cells. *Gastroenterol* 1990(98):1272-9.
- Donaldson RM Jr, Mackenzie IL, Trier JS: Intrinsic factor-mediated attachment of vitamin B<sub>12</sub> to brush border and microvillous membranes of hamster intestine. *J Clin Invest* 1969(46):1215-28.
- Doscherholmen A, Hagen PS, Liu M: Radioactive absorption studies: results of direct measurement of radioactivity in blood. *Blood* 1957(12):336-46.
- Doscherholmen A, McMahon J, Ripley D: Vitamin B<sub>12</sub> assimilation from chicken meat. *Am J Clin Nutr* 1978(31):825-30.
- Draper A, Lewis J, Malhotra N, Wheeler E: The energy and nutrient intakes of different types of vegetarian: a case for supplements? *Br J Nutr* 1993(69):3-19.
- Dwyer JT: Health aspects of vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 1988(48):712-38S.
- Dwyer JT: Nutritional consequences of vegetarianism. *Ann Rev Nutr* 1991(11):61-91.
- Economides DL, Ferguson J, Mackenzie IZ, Darley J, Ware II, Holmes-Siedle M: Folate and vitamin B<sub>12</sub> concentrations in maternal and fetal blood, and amniotic fluid in second trimester pregnancies complicated by neural tube defects. *Br J Obstet Gynecol* 1992(99):23-25.
- Edwin E: The segmentation of polymorphonuclear neutrophils. *Acta Medica Scand* 1967(182):401-10.
- Eisenhans B, Rosenberg ICH: Influence of metal substitution on vitamin B<sub>12</sub> binding to human intrinsic factor and transcobalamins I and II. *Biochem* 1984(23):805-8.
- England JM, Down MC, Wise IJ, Linnell JC: The transport of endogenous vitamin B<sub>12</sub> in normal human serum. *Clin Sci Molec Med* 1976(51):47-52.
- Fernandes-Costa F, Metz J: Binding of methylfolate and pteroylglutamic acid by the specific serum folate binder. *J Lab Clin Med* 1979(93):181-8.
- Fernandes-Costa F, Metz J: Levels of transcobalamins I, II, and III during pregnancy and in cord blood. *Am J Clin Nutr* 1982(35):87-93.
- Fernandez-Costa F, Metz J: Transplacental transport in the rabbit of vitamin B<sub>12</sub> bound to human transcobalamins I, II and III. *Br J Haematol* 1979(43):625-30.
- Festen HP: Intrinsic factor secretion and cobalamin absorption: physiology and pathophysiology in the gastrointestinal tract. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1991(188):1-7.
- Finkler AE, Hall CA: Nature of the relationship between vitamin B<sub>12</sub>-binding and cell uptake. *Arch Biochem Biophys* 1967(120):291-6.
- Fleming AF: Urinary excretion of folate in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Brit Com* 1972(79):916-20.
- Flint A: A clinical lecture on anemia. *Am Med Times* 1860(1):181-6.
- Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO), World Health Organisation (WHO) (eds): Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B<sub>12</sub>. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. *FAO Food and Nutrition Series No. 23*, Rome, 1988.
- Franklin TL, Kolasa KM, Griffin K, Mayo C, Badenhop DT: Adherence to very low fat diet by a group of cardiac rehabilitation patients in the rural southeastern United States. *Arch Fam Med* 1995(4):551-4.
- Frery N, Huel G, Leroy M, Moreau T, Savard R, Blot P, Lellouch J: Vitamin B<sub>12</sub> among parturients and their newborns and its relationship with birthweight. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992 (45): 155-63.

- Friedman PA, Shia MA, Wallace JK: A saturable high affinity binding site for transcobalamin II-vitamin B<sub>12</sub> complexes in human placental membrane preparations. *J Clin Invest* 1977(59):51-8.
- Gadowsky SL, Wolfe SA, Jory J, O'Connor DL, Gibson RS: Laboratory folate and iron indices of pregnant adolescents accessed through public health in southern Ontario. *FASEB J* 1992(6):A5922.
- Garewal G, Narang A, Das KC: Infantile tremor syndrome: a vitamin B<sub>12</sub> deficiency syndrome in infants. *J Trop Pediatr* 1988(34):174-8.
- Gärtner J, Heinrich B, Lenard HG, Kries R von: Neuralrohrdefekte in Deutschland: Häufigkeit potentiell vermeidbarer Fälle. *Kinderärztl Praxis* 1997(1):10-15.
- Gee JM, Bhabuta A, Johnson IT: A technique for assessing the biological availability of folate in foods. *Food Chem* 1989(31):149-158.
- Genzel-Boroviczeny O, Hachmeister A, Kries R von: Unverändertes Risiko für Neuralrohrdefekte: Mangelhafte Umsetzung der Empfehlungen zur Folsäureprophylaxe in der Frühschwangerschaft. *Kinderärztl Praxis* 1997(1):6-9.
- Gibson RS: Principles of nutritional assessment. Oxford University Press, New York 1990.
- Giugliani ERJ, Jorge SM, Goncalves AL: Serum and red blood cell folate levels in parturients, in the intervillous space of the placenta and in full-term newborns. *J Perinat Med* 1985(13):55-9.
- Giugliani ERJ, Jorge SM, Goncalves AL: Serum vitamin B<sub>12</sub> levels in parturients, in the intervillous space of the placenta, and in full-term newborns and their interrelationships with folate levels. *Am J Clin Nutr* 1985(41):330-5.
- Goddijn-Wessel TA, Wouters MG, van de Molen EF, Spuijbroek MD, Steegers-Theunissen RP, Blom HJ, Boers GH, Eskes TK: Hyperhomocysteinemia: a risk factor for placental abruption or infarction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996(66):23-9.
- Goh YT, Jakobsen DW, Green R: Diagnosis of functional cobalamin deficiency: utility of transcobalamin-bound vitamin B<sub>12</sub> determination on conjunction with total serum homocysteine and methylmalonic acid. *Blood* 1992(80):390A (abstract).
- Gould KL, Ornish D, Scherwitz L: Changes in myocardial perfusion abnormalities by positron emission tomography after long-term intense risk factor modification. *J Am Med Assoc* 1995(274):894-901.
- Graber SE, Scheffel U, Hodgkinson B, McIntyre PA: Placental transport of vitamin B<sub>12</sub> in the pregnant rat. *J Clin Invest* 1971(50):1000-4.
- Grace E, Emans SJ, Drum DE: Hematologic abnormalities in adolescents who take oral contraceptive pills. *J Pediatr* 1982(101):771-4.
- Gräsbeck R, Kouvonen I: The materials and processes of intestinal transport: absorption of the cobalamins. In: Hall CA (ed), *The cobalamins*, Churchill Livingstone, NY 1980:79-108.
- Green R, Kinsella LJ: Current concepts in the diagnosis of cobalamin deficiency. *Neurol* 1995(45):1435-40.
- Green R: Metabolite assays in cobalamin and folate deficiency. *Baillieres Clin Haematol* 1995(8):533-66.
- Green R: Pathobiology of central nervous system dysfunction in vitamin B<sub>12</sub> deficiency. In: Rosenberg ICH, Ronnenberg A (eds), *Vitamin and brain function*, Boston, Foundation for Nutritional Advancement 1994:36-9.
- Gregory JF III: Bioavailability of folate. *Eur J Clin Nutr* 1997(51): S54-S59.
- Gregory JF: Chemical and nutritional aspects of folate research: analytical procedures, methods of folate synthesis, stability and bioavailability of dietary folates. *Adv Food Nutr Res* 1989(33):1-101.
- Groeneveld M: Beurteilung einer vorwiegend lakto-vegetabilen Ernährungsform anhand der Zufuhr und der Versorgung mit Vitaminen. Wissenschaftlicher Fachverlag, Gießen 1994.
- Grossowicz N, Jablonska M, Beyth Y: Vitamin B<sub>12</sub>-binding proteins in human amniotic fluid: an index to fetal maturity. *Am J Obstet Gynecol* 1983(146):331-2.
- Gueant JL, Djalali M, Aouadj R, Gaucher P, Monin B, Nicolas JP: In vitro and in vivo evidences that the malabsorption of cobalamin is related to its binding on haptocorrin (R binder) in chronic pancreatitis. *Am J Clin Nutr* 1986(44):265-77.
- Gulati GL, Hyun BH: Blood smear examination. *Heamtol Oncol Clin North Am* 1994(8):631-50.
- Hages M, Brönstrup A, Prinz-Langenohl R, Pietrzik K: Zur Aktualisierung der deutschen Empfehlungen für die Folatezufuhr, Teil 2. *Ern Umschau* 1999(46): 296-99.
- Hakami N, Neimann PE, Canellos GP, Lazerson J: Neonatal megaloblastic anemia due to inherited transcobalamin II deficiency in two siblings. *N Engl J Med* 1971(285):1163-70.
- Hall CA, Finkler AE: In vivo plasma vitamin B<sub>12</sub> binding in B<sub>12</sub> deficient and non-deficient subjects. *J Lab Clin Med* 1962(60):765-76.
- Hall MH, Pirani BBK, Campbell D. The cause of the fall in serum folate in normal pregnancy. *Brit J Obstet Gynaecol* 1976(83):132-6.
- Halsted CH: Intestinal absorption of dietary folates. In: Picciano MF, Stokstad ELR, Gregory JF (eds), *Folic acid metabolism in health and disease*, New York, Wiley-Liss 1990, pp 23-46.

- Hansen H, Rybo G: Folic acid dosage in prophylactic treatment during pregnancy. *Acta Obst Gyn Scand* 1967(46, suppl 7):107-12.
- Hansen M, Hogdell DK, Kryger-Baggasen N: Cobalamin binding proteins in the human fetus. *Scand J Clin Lab Invest* 1989(194, Suppl):23-6
- Harman SK, Parnell WR: The nutritional health of New Zealand vegetarian and non-vegetarian Seventh-Day-Adventists: selected vitamin, mineral and lipid levels. *N Zealand Med J* 1998(111):91-4.
- Havala S, Dwyer JT: Position of the American Dietetic Association: vegetarian diets. *J Am Diet Assoc* 1993(93):1317-9.
- Heid MK, Bills ND, Hinrichs SH, Clifford AJ: Folate deficiency alone does not produce neural tube defects in mice. *J Nutr* 1992(122):888-94.
- Heinrich HC: Die experimentellen Grundlagen einer hochdosierten oralen Vitamin-B<sub>12</sub>-Therapie beim Menschen. *Ergebn Inn Med Kinderheilk* 1967(25):1-24.
- Heinrich HC: Thiamin- und Folsäuremangel bei chronischem Alkoholismus, Eisen- und Cobalaminmangel bei veganischer Ernährung. *Ernähr Umschau* 1990(37):S594-607.
- Heins U: Gießener Vollwert-Ernährungsstudie Teil II: Einfluß der Kostform auf Eisen- Zink- und Kupferstatus in der Schwangerschaft, Dissertation im Fachbereich Agrarwissenschaften und Umweltsicherung, Haushalts- und Ernährungswissenschaften, in Vorbereitung.
- Hellegers A, Okuda K, Nesbitt REI, Smith DW, Chow BF: Vitamin B<sub>12</sub> absorption in pregnancy and in the newborns. *Am J Clin Nutr* 1957(5):327-33.
- Herbert V, Castle WB: Divalent cations and pH dependence of rat intrinsic factor action in everted sacs and mucosal homogenates of rats small intestine. *J Clin Invest* 1961(40):1978-83.
- Herbert V, Colman M, Spivack M: Folic acid deficiency in the United States: folate assays in prenatal clinic. *Am J Obstet Gynecol* 1975(123):175-9.
- Herbert V, Colman M: Folic acid and vitamin B<sub>12</sub>. In: Shils ME, Young VR (eds): *Modern nutrition in health and disease*. Williams & Wilkins, Baltimore, 7<sup>th</sup> ed 1988.
- Herbert V, Drivas G, Foscaldi R: Multi vitamin/mineral food supplements containing B<sub>12</sub> may also contain analogues of vitamin B<sub>12</sub>. *N Engl J Med* 1982(307):255-6.
- Herbert V, Drivas G, Manusselis C, Mackler B, Eng J, Schwartz E.: Are colon bacteria a major source of cobalamin analogues in human tissues? *Trans Assoc Am Physicians* 1984(97):161-71.
- Herbert V, Jacob E, Wong K-TJ, Scott J, Pfeffer RD: Low serum vitamin B<sub>12</sub> levels in patients receiving ascorbic acid in megadoses: studies concerning the effect of ascorbate on radioisotope vitamin B<sub>12</sub> assay. *Am J Clin Nutr* 1978(31):253-8.
- Herbert V, Kshitish CD: Folic acid and vitamin B<sub>12</sub>. In: Shils ME, Olson JA, Shike M (eds), *Modern nutrition in health and disease*. Baltimore, Lea & Febiger 8th ed 1994, pp 402-25.
- Herbert V: Biochemical and hematologic lesions in folic acid deficiency. *Am J Clin Nutr* 1967(20):562-72.
- Herbert V: Experimental nutritional folate deficiency in man. *Trans Ass Am Phys* 1962(75):307-320.
- Herbert V: Folic acid. In: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC (eds), *Modern nutrition in health and disease*. Baltimore, Lea & Febiger 9th ed 1998, pp 433-46.
- Herbert V: Making sense of laboratory test of folate status: folate requirements to sustain normality. *Am J Hematol* 1987(26):199-207.
- Herbert V: Staging Vitamin B<sub>12</sub> (cobalamin) status in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1994(59):1213-22.
- Herbert V: The 1986 Herman Award Lecture. Nutrition science as a continually unfolding story: the folate and vitamin B<sub>12</sub> paradigm. *Am J Clin Nutr* 1987(46):387-402.
- Herbert V: Vitamin B<sub>12</sub>. In: Ziegler EE, Filer LJ (eds), *Present knowledge in nutrition*. ILSI Press Washington DC, 1996, 7<sup>th</sup> ed:191-205.
- Herbert V: Vitamin B<sub>12</sub>: plant sources, requirements, an assay. *Am J Clin Nutr* 1988(48):852-8.
- Herbert V: Vitamin C supplements and disease: counterpoint. *J Am Coll Nutr* 1995(14):112-3.
- Herzlich B, Herbert V: Depletion of serum holo-transcobalamin II an early sign of negative B<sub>12</sub> balance. *Lab Invest* 1988(58):332-7.
- Herzlich BC, Lichstein E, Schulhoff N, Weinstock M, Pagala M, Ravindran K, Namba T, Nieto J, Stabler AP, Allen RH, Malinow MR: Relationship among homocyst(e)ine, vitamin B<sub>12</sub> and cardiac disease in elderly. *J Nutr* 1996(126):S1249-S1253.
- Heseker H, Adolf T, Eberhardt W, Hartmann S, Herwig A, Kübler W, Matiaske B, Moch KJ, Nitsche A, Schneider R, Zipp A: *Lebensmittel- und Nährstoffaufnahme Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland*. VERA-Schriftenreihe, Bd. III, 2. überarbeitete Auflage. Fleck, Niederkleen 1994.
- Heseker H, Schneider R, Moch KJ, Kohlmeier M, Kübler W: *Vitaminversorgung Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland*. VERA-Schriftenreihe, Bd. IV. Fleck, Niederkleen 1994.
- Hibbard BM, Hibbard ED, Jeffcoate TNA: Folic acid and reproduction. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1965(44):375-400.

- Hibbard BM, Hibbard ED: Neutrophil hypersegmentation and defective folate metabolism in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Brit Com* 1971(78):776-80.
- Hibbard ED, Smithells RW: Folic acid metabolism and human embryopathy. *Lancet* 1965(1):1254-6.
- Hines JD: Ascorbic acid and vitamin B<sub>12</sub> deficiency [letter]. *J Am Med Assoc* 1975(234):24.
- Hitzig WH, Dohmann V, Pluss HJ, Vischer D: Hereditary transcobalamin II deficiency: clinical findings in a family. *J Pediatr* 1974(85):622-8.
- Hodgkin DC, Kamper J, Mackay M: Structure of vitamin B<sub>12</sub>. *Nature* 1956(178):64-6.
- Hodgkin DC, Lindsey J, Sparks RA: Structure of air-dried crystals of vitamin B<sub>12</sub>. *Proc R Soc London A* 1962(266):494-517.
- Hoffmann I, Groeneveld M: Healthy eating. *Med Technol Int* 1995(1):68-69.
- Hoffmann I, Heuer T, Groeneveld M, Leitzmann C: Vergleich der BLS-Version II.1 und II.2 bei verschiedenen Kostformgruppen. *Ern Umschau* 1999(46):441-6.
- Hoffmann I, Kohl M, Groeneveld M, Leitzmann C. Development and validation of a new instrument to measure food intake. *Am J Clin Nutr* 1994;59:284S.
- Hoffmann I: Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie: Untersuchung auf Bias am Beispiel von Fettstoffwechsel-Parametern. Wissenschaftlicher Fachverlag, Gießen 1994.
- Holliday R, Grigg GW: DNA methylation and mutation. *Mutation Res* 1993(285):61-67.
- Horadagoda NU, Batt RM: Lysosomal localisation of cobalamin during absorption by the ileum of the dog. *Biochim Biophys Acta* 1985(838):206-10.
- Horne DW, Patterson D, Cool RJ: Effect of nitrous oxide inactivation of vitamin B<sub>12</sub> dependent methionine synthetase on the subcellular distribution of folate coenzymes in rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1989(270):729-33.
- Huber AM; Wallins LL; DeRusso P: Folate nutriture in pregnancy. *J Am Diet Assoc* 1988(88):791-5.
- Institute of Medicine (IOM): Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B<sub>6</sub>, folate, vitamin B<sub>12</sub>, pantothenic acid, biotin, and choline. National Academy Press, prepublication copy, Washington, DC 1998.
- Irl C, Hasford J: Arzneimittel in der Schwangerschaft und ihre Risiken für das sich entwickelnde Kind - das PEGASUS-Projekt. *Med Inform* 1997:581-5.
- IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature: The nomenclature of corrinoids (1973 recommendations). *Biochem* 1974(13):1550-60.
- Jacob E and Herbert V: Measurement of unsaturated "granulocyte related" (transcobalamin I and III) and "liver-related" (transcobalamin II) B<sub>12</sub>-binders by instant batch separation using a microfine precipitate of silica (Quso G32). *J Lab Clin Med* 1975(86):505.
- Jadhav M, Webb JKG, Vaishanava S, Baker SJ: Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in Indian infants - a clinical syndrome. *Lancet* 1962(3):903-7.
- Jagerstad M, Lindstrand K, Westesson AK: Hydrolysis of conjugated folic acid by pancreatic „conjugase“. *Scand J Gastroenterol* 1972(7):593-7.
- Jakobsen DW, Montejano YD, Vitols KS, Huennekens FM: Adherence of L-1210 murine leukemia cells to Sephacryl-aminopropyl cobalamin beads treated with transcobalamin II. *Blood* 1980(55):160-3.
- Janelle KC, Barr SI: Nutrient intake and eating behaviour scores of vegetarian and nonvegetarian women. *J Am Diet Assoc* 1995(95):180-9.
- Jukes TH, Stokstad ELR: The role of vitamin B<sub>12</sub> in metabolic processes. *Vitam Horm* 1951(9):1-26.
- Kanazawa S, Herbert V: Mechanism of enterohepatic circulation of vitamin B<sub>12</sub>. *Trans Assoc Am Physicans* 1983(96):336-44.
- Kapadia CR, Mathan VI, Baker SJ: Free intrinsic factor on the small intestine in man. *Gastroenterol* 1976(70):107-6.
- Kapadia CR, Serfilippi D, Voloshin K, Donaldson RM jr: Intrinsic factor mediated absorption of cobalamin by guinea pig ileal cells. *J Clin Invest* 1983(71):440-8.
- Keagy PM, Shane B, Oace SM: Folate bioavailability in humans: effects of wheat bran and beans. *Am J Clin Nutr* 1988(47):80-8.
- Keagy PM: Rat bioassay of folate monoglutamate, heptaglutamate and wheat bran. *Fed Proc* 1985(44):777-8.
- Key TH, Thorogood M, Appleby PM, Burr ML: Dietary habits and mortality in 11.000 vegetarian and health conscious people: results of a 17-year follow up. *Brit Med J* 1996(313):775-9.
- Kirke PN, Molloy AM, Daly LE, Burke H, Weir DG, Scott JM: Maternal plasma folate and vitamin B<sub>12</sub> are independent risk factors for neural tube defects. *Q J Med* 1993(86):703-708.
- Kirke PN, Molloy AM, Daly LE, Burke H, Weir DG, Scott JM: Maternal plasma folate and vitamin B<sub>12</sub> are independent risk factors for neural tube defects. *Q J Med* 1993(86):703-8.
- Kishimoto T, Tavassoli M, Green R, Jacobsen DW: Receptors for transferrin and transcobalamin II display segregated distribution on microvilli of leukemia L1210 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1987(146):1102-8.

- Kitay DZ, Hogan WJ, Eberle B, Mynt T: Neutrophil hypersegmentation and folic acid deficiency in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1969(104):1163-73
- Knutsen SF: Lifestyle and the use of health services. *Am J Clin Nutr* 1994(59):1171S-5S.
- Koerber K von, Männle T, Leitzmann C: Vollwert-Ernährung. Heidelberg, Haug, 9. Aufl. 1999.
- Kolhouse JF, Kondo H, Allen NC: Cobalamin analogues are present in human plasma and can mask cobalamin deficiency because current radioisotope dilution assays are not specific for true cobalamin. *N J Med* 1978(299):785-92.
- Kondo H, Binder MJ, Kolhouse JF, Smythe R, Podell ER, Allen RH: Presence and formation of cobalamin analogues in multivitamin-minerals pills. *J Clin Invest* 1982(70):889-98.
- Kouvonen I, Grasbeck R: The role of sialic acid in the binding of calcium ions to intrinsic factor and its intestinal receptor. *Biochim Biophys Acta* 1984(797):163-70.
- Krumdieck CE, Fukushima K, Fukushima T: A long-term study of the excretion of folate and pterins in a human subject after investigation of <sup>14</sup>C-folic acid with observations on the effects of diphenylhydantoin administration. *Ann J Clin Nutr* 1978(31):88-93.
- Kumento A: Studies on the serum binding of vitamin B<sub>12</sub> in the newborn human infant. *Acta Paediatr Scand* 1969(194):1.
- Landon MJ, Hytten FE: The excretion of folate in pregnancy. *Arch Disease Childh* 1971(46): 810-4.
- Laurence M, James N, Miller MH, Tennant GB, Campbell H. Double-blind randomised controlled trial of folate treatment before conception to prevent recurrence of neural-tube defects. *Brit Med J* 1981(282):1509-11.
- Lehti KK: Iron, folic acid, and zinc intakes and status of low socio-economic pregnant and lactating Amazonian women. *Eur J Clin Nutr* 1989(43):505-13.
- Leitzmann R: Der Magnesiumstatus von schwangeren Vollwertkünstlerinnen. Eine Untersuchung im Rahmen der Studie „Nährstoffversorgung in der Schwangerschaft“. Dissertation im Fachbereich Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität, Gießen, 1999.
- Levine AS, Doscherholmen A: Vitamin B<sub>12</sub> bioavailability from egg yolk and egg white: relationship to binding proteins. *Am J Clin Nutr* 1983(38):436-9.
- Levine JS, Allen RH, Alpers DH, Seetharam B: Immunocytochemical localization of the intrinsic factor-cobalamin receptor during cell maturation. *J Cell Biol* 1964(98):1111-8.
- Lin BF, Huang RFS, Shane B: Regulation of folate and one carbon metabolism in mammalian cells. 3. Role of mitochondrial folylpolyglutamate synthetase. *J Biol Chem* 1993(268):21674-9.
- Lindemans J, Kroes ACM, Geel JV: Uptake of transcobalamin II-bound cobalamin by HL-60 cells: effects of differentiation induction. *Exp Cell Res* 1989(184):449-60.
- Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen RH: Diagnosis of cobalamin deficiency II: Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid and total homocysteine. *Am J Hematol* 1990(34): 99-107.
- Linnell JC, Bhatt HR: Inherited errors of cobalamin metabolism and their management. *Baillieres Clin Haematol* 1995(8):567-601.
- Liu S, Stampfer MJ, Hu FB, Giovannucci E, Rimm E, Manson JE, Hennekens CH, Willett WC: Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. *Am J Clin Nutr* 1999(70):412-9.
- Loria A, Vaz-Pinto A, Arroyo P: Nutritional anemia VI. Fetal hepatic storage of metabolites in the second half of pregnancy. *J Pediatr* 1977(91):569-73.
- Lowe KE, Osborne CB, Lin BF, Kim JF, Hsu JC, Shane B: Regulation of folate and one carbon metabolism in mammalian cells. 2. Effect of folylpolyglutamate synthetase substrate specificity and level on folate metabolism and folylpolyglutamate specificity of metabolic cycles of one carbon metabolism. *J Biol Chem* 1993(268):21674-9.
- Lowenstein L, Cantlie G, Ramos O, Brunton L: The incidence and prevention of folate deficiency in a pregnant clinic population. *Canad Med Assoc J* 1966(95):843-797-806.
- Lucock MD, Daskalakis IG, Wild J: The influence of dietary folate and methionine on the metabolic disposition of endotoxic homocysteine. *Biochem Molec Med* 1996(59):104-11.
- Luhby AL, Cooperman JM, Donnfield AM: Observations on the transfer of vitamin B<sub>12</sub> from mother to fetus and newborns. *Am J Dis Child* 1958(96):532-6.
- Luhby AL, Cooperman JM, Stone M: Physiology of vitamin B<sub>12</sub> in pregnancy, the placenta and the newborn. *Am J Dis Child* 1961(102):753-7.
- Lussier Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J.: Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 1996(64):587-93.
- Mackenzie IL, Donaldson RM: Effect of divalent cations and pH on intrinsic factor-mediated attachment of vitamin B<sub>12</sub> to intestinal microvillous membranes. *J Clin Invest* 1972(51):2465-71.
- Mackey AD, Picciano MF: Maternal folate status during extended lactation and the effect of supplemental folic acid. *Am J Clin Nutr* 1999(69):285-92.

- Magnus E, Müller C: A new, peroral non-radioactive vitamin B<sub>12</sub> absorption test compared with the Schilling test. *Eur J Haematol* 1995(54):117-9.
- Malinow MR: Plasma homocysteine: a risk factor for arterial occlusive diseases. *J Nutr* 1996(126):1238S-43S.
- Margetts BM: Basic issues in designing and interpreting epidemiological research. In: Margetts BM, Nelson M (eds), *Design concepts in nutritional epidemiology*, Oxford Medical Publications, Oxford 1991:13-52.
- Markanen T, Pajula RL, Himanen P, Virtanen S: Serum folic acid activity (L. casei) in Sephadex gel chromatography. *J Clin Pathol* 1973(26):486-93.
- Martin RH, Harper TA, Kelso W: Serum folic acid in recurrent abortions. *Lancet* 1965(1):670-3.
- Mason JB, Shoda R, Haskell M, Selhub J, Rosenberg IH: Carrier affinity as a mechanism for the pH-dependence of folate transport in the small intestine. *Biochim Biophys Acta* 1990(1024;2):331-5.
- Mason JB: Intestinal transport of monoglutamyl folates in mammalian systems. In: Picciano MF, Stokstad ELR, Gregory JF (eds), *Folic acid metabolism in health and disease*, New York, Wiley-Liss 1990, pp 47-64.
- Metz J, McGrath K, Bennett M, Hyland K, Bottiglieri T: Biochemical indices of vitamin B<sub>12</sub> nutrition in pregnant patients with subnormal serum vitamin B<sub>12</sub> levels. *Am J Hematol* 1995(48):251-5.
- Metz J: Cobalamin deficiency and the pathogenesis of nervous system disease. *Annu Rev Nutr* 1992(12):59-79.
- Metz J: The desoxyuridine suppression test. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1984(20):205-41.
- Mikol YB, Hoover KL, Creasia D, Poirier LA: Hepatocarcinogenesis in rats fed methyl-deficient, amino acid-defined diets. *Carcinogenesis* 1983(4):1619-29.
- Millet P, Guillard JC, Fuchs F, Klepping J: Nutrient intake and vitamin status of healthy French vegetarians and nonvegetarians. *Am J Clin Nutr* 1989(50):718-27.
- Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, Lee YJ, Conley MR, Weir DG, Scott JM: Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural tube defects. *Lancet* 1995(345):149-51.
- Mills JL, Rhoads GG, Simpson JL, Cunningham GC, Conley MR, Lassman MR, Walden ME, Depp OR, Hoffman HJ: The absence of a relation between the periconceptional use of vitamins and neural tube defects. *N Engl J Med* 1989(321):430-5.
- Mills JL, Scott JM, Kirke PM, McPartlin JM, Conley MR, Weir CG, Molloy AM, Lee YJ: Homocysteine and neural tube defects. *J Nutr* 1996(126):756-60.
- Mills JL, Tuomilehto J, Yu KF, Colman N, Blazer WS, Koskela P, Rundle WE, Forman M, Toivanen L, Rhoads GG: Maternal vitamin levels during pregnancies producing infants with neural tube defects. *J Pediatr* 1992(120):863-71.
- Milunsky A, Jick H, Jick SS, Bruell CL, MacLaughlin DS, Rothman KJ, Willett W: Multivitamin/folic acid supplementation in early pregnancy reduces the prevalence of neural tube defects. *J Am Med Assoc* 1989(262):2847-52.
- Minot GR, Murphy WP: Treatment of pernicious anemia by special diet. *JAMA* 1926(87):470-6.
- Mitchell HK, Snell EE, Williams RJ: The concentrations of „folic acid“. *J Am Chem Soc* 1941(63):2284.
- Mozafar A: Enrichment of some B-vitamins in plants with application of organic fertilizers. *Plant and Soil* 1994(167):305-11.
- MRC Vitamin Study Research Group: Prevention of neural tube defects - results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991(338):131-7.
- Mulinare J, Cordero JF, Erickson JD, Berry RJ: Periconceptional use of multivitamins and the occurrence of neural tube defects. *J Am Med Assoc* 1988(260): 3141-5.
- Murphy M, Keating M, Boyle P, Weir DG, Scott JM: The elucidation of the mechanism of folate catabolism in the rat. *Biochem Biophys Res Comm* 1976(71):1017-24.
- National Health and Medical Research Council (NHMRC): Revised statement on the relationship between dietary folic acid and neural tube defects such as spina bifida. NHMRC, Australia, 115<sup>th</sup> session 1993.
- National Research Council (NRC): Recommended dietary allowances. National Academy Press, Washington, DC 10<sup>th</sup> ed 1989.
- Neiger R, Wise C, Tumber MB, Canick JA: First trimester bleeding and pregnancy outcome in gravidas with normal and low folate levels. *Am J Perinatol* 1993(10):460-2.
- Nexo E, Anderson JA: Unsaturated and cobalamin saturated transcobalamin I and II in normal human plasma. *Scand J Clin Invest* 1977(37):723-8.
- Norman EJ: Urinary methylmalonic acid/creatinine ratio defines true tissue cobalamin deficiency. *Br J Haematol* 1998(100): 614-5.
- Nutrition Committee of the American Heart Association: Dietary Guidelines for healthy American adults. A statement for health professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation* 1996(94):1795-1800.
- O'Connor DL: Folate status during pregnancy and lactation. *Adv Exp Med Biol* 1994(352):157-72

- O'Keefe CA, Bailey LB, Thomas EA, Hofler SA, Davis BA, Cerda JJ, Gregory JF: Controlled dietary folate affects folate status in nonpregnant women. *J Nutr* 1995(125):2117-25.
- Oakley GP Jr: Eat right and take a multivitamin. *N Engl J Med* 1998(9;338): 1060-1.
- Oleson H: Serum transcobalamins. *Scand J Gastroenterol* 1974(9, Supl 29):13-6.
- Peters TJ, Linnell JC, Matthews DM: Absorption of vitamin B<sub>12</sub> in the guinea pig III. The forms of vitamin B<sub>12</sub> in ileal mucosa and portal plasma in the fasting state and during absorption of cyanocobalamin. *Br J Haematol* 1971(20):299-305.
- Pfeiffer C, Diehl JF, Schwack W: Nahrungsfolate - eine aktuelle Übersicht. *Z Ernährungswiss* 1994(33):85-119.
- Pfeiffer CM, Rogers LM, Bailey LB, Gregory JF: Absorption of folate from fortified cereal-grain products and of supplemental folate consumed with or without food determined by using a dual-label stable-isotope protocol. *Am J Clin Nutr* 1997(66):1388-97.
- Pietrzik K, Bronstrup A: Folate in preventive medicine: a new role in cardiovascular disease, neural tube defects and cancer. *Ann Nutr Metab* 1997(41):331-43.
- Pietrzik K, Prinz R, Bung P, Chronides A: Folate status and pregnancy outcome. *NY Acad Sci* 1992(669):371-4.
- Pietrzik K, Thorand B: Folate economy in pregnancy. *Nutr* 1997(13): 975-7.
- Porck HJ, Frater-Schroder M, Frants RR, Kierat L, Erikson AW: Genetic evidence for fetal origin of transcobalamin II in human cord blood. *Blood* 1983(62):234-7.
- Ramanujam KS, Seetharam S, Ramasamy M, Seetharam B: Renal brush border membrane bound intrinsic factor. *Biochim Biophys Acta* 1990(1030):157-64.
- Ramasamy M, Alpers DH, Tiruppathi C, Seetharam B: Cobalamin release from intrinsic factor and transfer to cobalamin II with the rat enterocyte. *Am J Physiol* 1989(257):G791-7.
- Rappazzo ME, Hall CA: Transport function of transcobalamin II. *J Clin Invest* 1972(51):1915-8.
- Rappazzo ME, Salmi HA, Hall CA: The content of vitamin B<sub>12</sub> in adult and foetal tissue: a comparative study. *Br J Haematol* 1970(18):425-33.
- Rasmussen K, Moller J, Lyngbak M, Pedersen AM, Dybkjaer L: Age- and gender-specific reference intervals for total homocysteine and methylmalonic acid in plasma before and after vitamin supplementation. *Clin Chem* 1996(42):630-6.
- Rasmussen LB, Andersen NL, Andersson G : Folate and neural tube defects. Recommendations from a Danish working group. *Dan Med Bull* 1998(45):213-7.
- Refsum H, Nygard O, Kvale G, Ueland PM, Vollset SE: The Hordaland homocysteine study: the opposite tails odds ratios reveal differential effects of gender and intake of vitamin supplements at high and low plasma total homocysteine concentrations. *J Nutr* 1996(126):1244S-8S.
- Rhode BM, Cooper BA, Farmer FA: Effect of orange juice, folic acid, and oral contraceptives on serum folate in women taking a folate-restricted diet. *J Am Coll Nutr* 1983(2):221-30.
- Rickes EL, Brink NG, Koniuszy FR: Crystalline vitamin B<sub>12</sub>. *Science* 1948(107):396-8.
- Rieder MJ: Prevention of neural tube defects with periconceptional folic acid. *Clin Perinatol* 1994(21):483-503.
- Rinke U, Koletzko B: Prävention von Neuralrohrdefekten durch Folsäurezufuhr in der Frühschwangerschaft. *Deutsches Ärzteblatt* 1994(91):30-7.
- Ristow KA, Gregory III JF, Damron BL: Thermal processing effects on folacin bioavailability in liquid model systems, liver and cabbage. *J Agric Food Chem* 1982(30):801-6.
- Rivers JM: Safety of high-level vitamin C ingestion. In: Walter P, Stähelin H, Brubacher G: Elevated dosages of vitamins, Hans Huber, Toronto 1989.
- Roberts PD, James H, Petrie A, Morgan JO, Hoffbrand AV: Vitamin B<sub>12</sub> status in pregnancy among immigrants to Britain. *Br Med J* 1973(3):67-72.
- Roberts PM, Arrowsmith DE, Rau SM, Monk-Jones ME. Folate status of premature infants. *Arch Dis Child* 1969(44):637-42.
- Robertson JA, Gallagher ND: In vivo evidence that cobalamin is absorbed by receptor-mediated endocytosis in the mouse. *Gastroenterol* 1985(88): 908-12.
- Robertson JA, Gallagher ND: Increased intestinal uptake of cobalamin in pregnancy does not require synthesis of new receptors. *Biochim Biophys Acta* 1983(757):145-50.
- Ronov-Jessen V, Hansen J: The site of absorption of Co<sup>58</sup>-labeled vitamin B<sub>12</sub> in man. *Blood* 1965(25):224-30.
- Rosenberg ICH: Homocysteine, vitamins and arterial occlusive disease: an overview. *J Nutr* 1996(126):1235S-7S.
- Rosenberg IH, Striess RR, Godwin HA, Castle WA: Absorption of polyglutamic folate: Participation of deconjugating enzymes of the intestinal mucosa. *N Engl J Med* 1969(280):985-8.
- Rothenberg SP, Quadros EV: Transcobalamin II and the membrane receptor for the transcobalamin II cobalamin complex. *Baillieres Clin Haematol* 1995(8):499-514.

- Rothenberg SP, Weisberg H, Ficarra A: Evidence for the absorption of immunoreactive intrinsic factor into the epithelial cell during vitamin-B<sub>12</sub>-absorption. *J Lab Clin Med* 1972(79):587-97.
- Rottka H, Hermann-Kunz E, Hahn B, Lang H-P: Berliner Vegetarier Studie - Erste Mitteilung. *Akt Ernähr* 1988(13):161-70.
- Rottka H, Hermann-Kunz E, Hahn B, Lang H-P: Berliner Vegetarier Studie - Zweite Mitteilung. *Akt Ernähr* 1989(14):32-9.
- Ruter A, Gunzer U: Differentiation of granulocytes in Pappenheim stained blood cell smears using standardized cytophotometric analysis. *Blut* 1984(48):307-20.
- Sadowitz PD, Livingston A, Cavanaugh RM: Developmental regression as an early manifestation of vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Clin Pediatr* 1986(25):369-71.
- Said HM, Redha R: A carrier-mediated transport for folate in basolateral membrane vesicles of rat small intestine. *Biochem J* 1987(247):141-146.
- Sauberlich HE, Kretsch MJ, Skala JH.: Folate requirement and metabolism in non-pregnant women. *Am J Clin Nutr* 1987(46):1016-28.
- Sauberlich HE, Skala JH, Dowdy RP: Laboratory assessment of nutritional status. CRC Press, Cleveland, Ohio 1974.
- Sauberlich HE: Newer laboratory methods for assessing nutriture of selected B-complex vitamins. *Ann Rev Nutr* 1984(4):377-407.
- Savage CR, Green PD: Biosynthesis of transcobalamin II by adult rat liver parenchymal cells in culture. *Arch Biochem Biophys* 1976(173):691-702.
- Scholl TO, Hedinger ML, Schall JI, Khoo CS, Fischer RL: Dietary and serum folate: their influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1996(63):520-5.
- Scientific Committee of Food (SCF): Nutrient and energy intakes for the European Community. Directorate-General Industry, Thirty-first series, Brussels 1993.
- Scott JM, Dinn JJ, Wilson P, Weir DG: Pathogenesis of subacute combined degeneration: a result of methyl group deficiency. *Lancet* 1981(8242):334-7.
- Scott JM, McPartlin J, Geoghegan F, Courtney G, McNulty H, Weir DG: Folate catabolism in rat and human: investigation of short- and long-term components of catabolite excretion. In: Curtius CE (ed): *Chemistry and biology of pteridines*. Walter de Gruyter, Berlin 1989.
- Scott JM, McPartlin J, Molloy A, McNulty H, Halligan A, Darling M, Weir DG: Folate metabolism in pregnancy. *Adv Exp Med Biol* 1993(338):727-32.
- Scott JM: Bioavailability of vitamin B<sub>12</sub>. *Eur J Clin Nutr* 1996(51):S49-S53.
- Seetharam B, Presti M, Frank B, Tiruppathi C, Alpers DH: Intestinal uptake and release of cobalamin complexed with rat intrinsic factor. *Am J Physiol* 1985(248):G326-G331.
- Seetharam B, Ramanujam KS, Seetharam S, Li N, Fyfe JC: Normal and abnormal physiology of intrinsic factor mediated absorption of cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>). *Indian J Biochem Biophys* 1991(28):324-30.
- Seetharam S, Ramanujam KS, Seetharam B: Intrinsic factor receptor activity and cobalamin transport in bile duct-ligated rats. *Am J Physiol* 1991a(262):G210-15.
- Selhub J, Brin H, Grossowicz N: Uptake and reduction of radioactive folate by everted sacs of rat small intestine. *Eur J Biochem* 1973(33):433-438.
- Selhub J, Dhar GJ, Rosenberg ICH: Gastrointestinal absorption of folates and antifolates. *Pharmac Ther* 1983(29):397-418.
- Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, O'Leary DH, Wolf PA, Rush D, Schaefer EJ, Rosenberg ICH: Relationship between plasma homocysteine, vitamin status and extracranial carotid-artery stenosis in the Framingham Study population. *J Nutr* 1996(126):S1258-65.
- Seligman PA, Allan RH: Characterization of the receptor for TC II isolated from human placenta. *J Biol Chem* 1978(253):1766-72.
- Senti FR, Pilch SM: Analysis of folate data from the Second National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES II). *J Nutr* 1985(115):1398-1402.
- Shane B, Stokstad EL: Vitamin B<sub>12</sub>-folate interrelationships. *Annu Rev Nutr* 1985(5):115-41.
- Shane B: Folate chemistry and metabolism. In: Bailey LB (ed), *Folate in health and disease*, Marcel Dekker, New York, 1995(1):1-21.
- Shinton NK: Vitamin B<sub>12</sub> and folate metabolism. *Br J Med* 1972(799):556-9.
- Shojania AM, Hornady G, Barnes PH: Oral contraceptives and serum-folate level. *Lancet* 1968(1):1376-7.
- Shojania AM, Hornady G, Barnes PH: The effect of oral contraceptives on folate metabolism. *Am J Obstet Gynecol* 1971(111):782-91.
- Silink M, Reddel R, Bethel M, Rowe PB:  $\gamma$ -Glutamyl hydrolase (conjugase). *J Biol Chem* 1975(250):5982-94.



- Smith AM, Picciano MF, Deering RH: Folate intake and blood concentrations of term infants. *Am J Clin Nutr* 1985(41):590-8.
- Smith EL, Parker LFJ: Purification of anti-pernicious anemia factor. *Biochem J* 1948(43): 8A
- Smith JL, Goldsmith GA, Lawrence JD: Effect of oral contraceptive steroids on vitamin and lipid levels in serum. *Am J Clin Nutr* 1975(28):371-6.
- Sneed SS, Zane C, Thomas MR: The effects of ascorbic acid, vitamin B<sub>6</sub>, vitamin B<sub>12</sub>, and folic acid supplementation on the breast milk and maternal nutritional status of low socioeconomic lactating women. *Am J Clin Nutr* 1981(34):1338-46.
- Specker BL, Black A, Allen L, Morrow F: Vitamin B<sub>12</sub>: Low milk concentrations are related to low methylmalonic aciduria in their infants. *Am J Clin Nutr* 1990(52):1073-76.
- Srikantia SG, Reddy V: Megaloblastic anemia of infancy and vitamin B<sub>12</sub>. *Br J Haematol* 1967(13):949-53.
- Stabler SP, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J: Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency. *Blood* 1990(76):871-81.
- Steegers-Theunissen RP, Boers GH, Blom HJ: Neural tube defects and elevated homocysteine levels in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1995(172):1436-41.
- Steegers-Theunissen RP, Boers GH, Trijbells FJ, Finkelstein JD, Blom HJ, Thomas CM, Borm GP, Wouters MG, Eskes TK: Maternal hyperhomocysteinemia: a risk factor for neural tube defects? *Metabolism* 1994(43):1475-80.
- Steen MT, Boddie AM, Fisher AT, McMahon W, Saxe D, Sullivan KM, Dembure PP, Elsas LJ: Neural-tube defects are associated with low concentrations of cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) in amniotic fluid. *Prenatal Diagn* 1998(18):545-55.
- Stokstad ELR: Some properties of a growth factor for *Lactobacillus casei*. *J Biol Chem* 1943(149):573-4.
- Strobl JS: A role of DNA methylation in vertebrate gene expression? *Mol Endocrinol* 1990(4):181-3.
- Strum WB: Enzymatic reduction and methylation of folate following pH-dependent, carrier-mediated transport in rat jejunum. *Biochim Biophys Acta* 1979(554):249-57.
- Sullivan LW, Greene RJ, Liu YK: Serum B<sub>12</sub>-binding capacity in pregnancy. *J Clin Invest* 1967(46):1121-2.
- Sumner AE, Chin MM, Abrahm JL, Berry GT, Gracely EJ, Allen RH, Stabler SP: Elevated methylmalonic acid and total homocysteine levels show high prevalence of vitamin B<sub>12</sub> deficiency after gastric surgery. *Ann Intern Med* 1996(124):469-76.
- Tamura T, Mizuno Y, Johnston KE, Jakob RA: Food folate assay with protease,  $\alpha$ -amylase, and folate conjugase treatments. *J Agric Food Chem* 1997(45):135-9.
- Tamura T, Soong SJ, Sauberlich HE: Evaluation of the deoxyuridine suppression test using whole blood samples from folic acid-supplemented subjects. *Am J Clin Nutr* 1990(51):80-6.
- Tamura T, Stokstad ELR: The availability of food folate in man. *Brit J Haematol* 1973(25):513-32.
- Taylor KB, French JE: The role of the lymphatics in the intestinal absorption of vitamin B<sub>12</sub> in the rat. *Quarter J Exp Physiol* 1960(45):72-6.
- Tisman G, Herbert V: B<sub>12</sub> dependence of cell uptake of serum folate: an explanation for high serum folate and cell folate depletion in B<sub>12</sub> deficiency. *Blood* 1973(41):465-9.
- Tisman G, Vu T, Amin J: Measurement of red blood cell vitamin B<sub>12</sub>. *Am J Hematol* 1993(43):226-9
- Tolle A, Schaal E, Jahnke HD: Comparative studies of the differentiation of Pappenheim-Wright stained blood smears in the diagnosis of leukosis. *Zentralbl Veterinärmed* 1966(13):62-7.
- Tonstad S, Refsum H, Ueland PM: Association between plasma total homocysteine and parenteral history of cardiovascular disease in children with familial hypercholesterinemia. *Circulation* 1997(96):180-8.
- Tungtrongchitr R, Pongpaew P, Prayurahong B, Changbumrung S, Vudhivai N, Migasena P, Schelp FP: Vitamin B<sub>12</sub>, folic acid and haematological status of 132 Thai vegetarians. *Int J Vitam Nutr Res* 1993(63):201-7.
- U.S. Department of Health and Human Services: Use of folic acid for prevention of spina bifida and other neural tube defects. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep* 1991(40):513.
- Ubbink JB, Delpont R, Vermaak WJH: Plasma homocysteine concentrations in a population with a low coronary heart disease prevalence. *J Nutr* 1996(126):S1254-S1257.
- Ubbink JB, Vermaak WJH, Bissbort S: Rapid high-performance liquid chromatography assay for total homocysteine levels in human serum. *J Chromatography* 1993(565): 441-446.
- Ubbink JB: Is an elevated circulating maternal homocysteine concentration a risk factor for neural tube defects? *Nutr Rev* 1995(53):173-5.
- Ueland PM: Homocysteine species as components of serum homocysteine [abstract]. *Clin Chem* 1997(43):S168.
- Vaz Pinto A, Torras V, Sandoval JF: Folic acid and vitamin B<sub>12</sub> determination in fetal liver. *Am J Clin Nutr* 1975(28):1085-6.

- Vesey CJ, Linnell JC, Bhatt HR: Cobalamin metabolism in vegetarians and vegans. n: Linnell JC, Bhatt HR, Biomedicine and Physiology of Vitamin B<sub>12</sub>, Children's Medical Charity, London 1990:13-8.
- Von der Porten AE, Gregory JF, Toth JP, Cerda JJ, Curry SH, Bailey LB: In vivo folate kinetics during chronic supplementation of human subjects with deuterium-labeled folic acid. *J Nutr* 1992(122):1293-9.
- Wagner C: Biochemical role of folate in cellular metabolism. In: Bailey LB (ed), Folate in health and disease, Marcel Dekker, New York, 1995(1):23-42.
- Wainfan E, Dizik M, Stendu M, Christman JK: Rapid appearance of hypomethylated DNA in liver of rats fed cancer-promoting, methyl-deficient diets. *Cancer Res* 1989(49):4094-7.
- Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR: Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999(180):660-4.
- Wang TTY, Chandler CJ, Halsted CH: Intracellular pteroylpolyglutamate hydrolase from human jejunal mucosa: isolation and characterization. *J Biol Chem* 1986(261):13551-5.
- Weissbach H, Toohey JI, Barber HA: Isolation and properties B<sub>12</sub> coenzymes containing benzimidazole or dimethylbenzimidazole. *Proc Natl Acad Sci* 1958(44):1095-9.
- Welch AD, Nichol CA: Water-soluble vitamins concerned with one- and two-carbon intermediates. *Annu Rev Biochem* 1952(21):633-86.
- Welch AD: Folic acid: discovery and the exciting first decade. *Persp Biol Med* 1983(27):64-75.
- Werler MM, Shapiro S, Mitchell AA: Periconceptional folic acid exposure and risk of occurrent neural tube defects. *J Am Med Assoc* 1993(269):1257-61.
- Wickramasinghe SN, Fida S: Correlations between holo-transcobalamin II, holohaptocorrin, and total B<sub>12</sub> in serum samples from healthy subjects and patients. *J Clin Pathol* 1993(46):537-39.
- Wickramasinghe SN: The desoxyuridine suppression test. In: Hall CA, The cobalamins, Churchill Livingstone, NY 1980(11):196-208.
- Wild J, Schorah C, Maude K, Levene MI: Folate intake in young women and their knowledge of preconceptional folate supplementation to prevent neural tube defects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996(70):185-9.
- Willet W (ed): Nutritional epidemiology. Oxford University Press, New York, 1998.
- Wills L: Treatment of pernicious anaemia of pregnancy and tropical anaemia with special reference to yeast extract as a curative agent. *Brit Med J* 1931(1):1059-64.
- Winkler G, Döring A, Keil U: Unterschiede im Ernährungsverhalten zwischen Wochenenden und Werktagen: Ergebnisse der Ernährungserhebung 1984/85 des MONICA-Projektes Augsburg. *Z Ernährungswiss* 1991(30):313-7.
- World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research: Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. Banta Book Group, Menasha 1997.
- Wright J: The neutrophilic hypersegmentation index ("NHI"): an inexpensive, underutilized test of folate nutrition. *Int Clin Nutr Rev* 1990(10):435-7.
- Wu A, Chanarin I, Stavins G, Levi AJ. Folate deficiency in the alcoholic: its relationship to clinical and haematological abnormalities, liver disease, and folate stores. *Br J Haematol* 1975(29):469-78.
- Yamada S, Shibata Y, Takayama M, Narita Y, Sugawara K, Fukuda M: Content and characteristics of vitamin B<sub>12</sub> in some seaweeds. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1996(42):497-505.
- Young DS: Implementation of SI units for clinical laboratory data: style specifications and conversion tables. *J Nutr Biochem* 1990(1): 599-613.
- Zamorano AF, Arnalich F, Sanchez Casas E, Sicilia A, Solis C, Vázquez JJ, Gasalla R: Levels of iron, vitamin B<sub>12</sub>, folic acid and their binding proteins during pregnancy. *Acta Haematol* 1985(74):92-6.
- Zettner A, Duly PE: The weak binding reaction between folate and human serum proteins. *Ann Clin Lab Sci* 1978(8):57-63.

## Lebenslauf

**Geburtstag:** 06. Februar 1966  
**Geburtsort:** Dortmund  
**Familienstand:** verheiratet, eine Tochter

### **Schulbildung:**

1972 - 1976 Grundschule in Böhmenkirch  
1976 - 1979 Helfensteingymnasium Geislingen/Steige  
1979 - 1985 Hohe Landesschule Hanau  
1985 Abitur

### **Beruflicher Werdegang:**

1985 Beginn einer Ausbildung als Rechtsanwaltsgehilfin  
1986 - 1987 Inkassosachbearbeiterin bei Schimmelpfeng GmbH  
1987 - 1989 Inkassosachbearbeiterin bei ARGUS Inkasso GmbH  
1995 - 2000 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Ernährungswissenschaft der Justus-Liebig-Universität Gießen  
seit 05/2000 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Medizininformatik, Biometrie und Epidemiologie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg unter Leitung von Prof. Dr. rer. nat. Olaf Gefeller

### **Studium:**

1989 - 1994 Studium der Haushalts- und Ernährungswissenschaften, JLU Gießen  
10/91 Vordiplomprüfung  
07/92-05/94 Diplomarbeit bei Prof. Dr. Claus Leitzmann, Projekt „Gießener Rohkost-Studie“: Ernährungs- und Gesundheitsstatus von Rohköstlern  
10/94 Diplomprüfung Haushalts- und Ernährungswissenschaften  
1996 - 1999 Zusatzstudium Grundlagen der angewandten Mathematik und Informatik  
11/99 Abschluß des Zusatzstudiums: Zertifikat

## Veröffentlichungen und Kongreßbeiträge

### A) Schriften in Fachzeitschriften

- Koebnick C, Heins U, Hoffmann I, Dagnelie PC, Leitzmann C:  
Improved folate status during pregnancy in women with long-term high vegetable intake compared to average Western diet. J Nutr, submitted for publication 06/2000.
- Hoffmann I, Groeneveld MJ, Boeing H, Koebnick C, Golf S, Katz N, Leitzmann C:  
The Giessen Wholesome Nutrition Study: relation between a health conscious diet and blood lipids. Eur J Clin Nutr 2000 in press.
- Hoffmann I, Koebnick C, Leitzmann C:  
Gesundheitliche Vorteile und Risiken einer dauerhaften Rohkost-Ernährung: ein Überblick. Ern Ökol 2000(1) in press.
- Koebnick C, Heins U:  
Kommentar zu van Dusseldorp M, Schneede J, Refsum H, Ueland PM, Thomas CMG, de Boer E, van Staveren WA: Risk of persistent cobalamin deficiency in adolescents fed a macrobiotic diet in early life, Am J Clin Nutr 1999;69:664-671. Res Complement Med 99(6):326-7.
- Koebnick C, Heins U, Leitzmann C:  
Ernährung in der Schwangerschaft Teil II: Vollwert-Ernährung - Lebensmittelverzehr und Schwangerschaftsverlauf. Ernähr 1999;23(7):203-7.
- Heins U, Koebnick C, Leitzmann C:  
Ernährung in der Schwangerschaft Teil I: Überblick. Ernähr 1999;23(6):246-50.
- Koebnick C, Strassner C, Hoffmann I, Leitzmann C:  
The consequences of a longterm raw food diet on body weight and menstruation - results of a questionnaire survey. Ann Nutr Metab 1999;43(2):69-79.
- Koebnick C, Strassner C, Leitzmann C:  
Bewertung der Rohkost-Ernährung in der Ernährungsberatung. Ern Umschau 1997;44(12):444-8.
- Strassner C, Weirich B, Koebnick C, Leitzmann C:  
Die Gießener Rohkost-Studie. Acta Medica Empirica 1997;36(8):429-34.

### B) Schriften in Verbraucherzeitschriften

- Koebnick C, Hoffmann I, Leitzmann C:  
Gesundheitliche Auswirkungen einer dauerhaften Rohkost-Ernährung – Ergebnisse einer Fragebogenerhebung. aid-Verbraucherdienst 2000(45) in press.
- Heins U, Koebnick C, Leitzmann C:  
Ernährungsberatung in der Schwangerschaft. aid-Verbraucherdienst 1999;44(9):226-31.
- Leitzmann C, Koebnick C, Dörries S, Fuhrmann P, Kwanbunjan K, Strassner C:  
Ernährungs- und Gesundheitsverhalten von Menschen mit überwiegender Rohkost-Ernährung. Eltern für unbelastete Nahrung e.V., Kiel, EfuN-Info 1997;1:8-10.
- Koebnick C, Dörries S, Fuhrmann P, Kwanbunjan K, Strassner C, Leitzmann C:  
Ernährungs- und Gesundheitsverhalten von Menschen mit überwiegender Rohkost-Ernährung. Vegetarier 1997;48(6): 252-7.
- Strassner C, Koebnick C, Leitzmann C:  
Rohkost-Ernährung: Teil 2 – Die Gießener Rohkost-Studie. aid-Verbraucherdienst 1997;42(11):268-74.
- Koebnick C, Strassner C, Leitzmann C:  
Rohkost-Ernährung: Teil 1 - Überblick und Bewertung der theoretischen Grundlagen. aid-Verbraucherdienst 1997;42(10):244-50.
- Dörries S, Fuhrmann P, Koebnick C, Kwanbunjan K, Strassner C, Leitzmann C:  
Die Gießener Rohkost-Studie. Fit fürs Leben 1994 (6):23-25.
- Koebnick C, Dörries S, Fuhrmann P, Kwanbunjan K, Strassner C, Leitzmann C:  
Die Gießener Rohkost-Studie. Naturarzt 1994 (4):44-5.

## **C) Kongreßbeiträge und Abstractveröffentlichungen**

Koebnick C:

Alternative Ernährungsformen - Vitamin B12 und Folsäure ein Problem? UGB-Symposium Nahrungsergänzungen - sinnvoll oder überflüssig, Gießen 1999.

Heins U, Koebnick C, Leitzmann C:

Vinegar Drink to improve iron-status in pregnancy. 10th International Symposium on Trace Elements in Man and Animal, Evian, France 1999; Book of Abstracts:200.

Heins U, Koebnick C, Leitzmann C:

Zinc status in pregnancy assessed by hair analysis - nutritional influences. 10th International Symposium on Trace Elements in Man and Animal, Evian, France 1999; Book of Abstracts:323.

Saalfrank J, Heins U, Koebnick C, Leitzmann C:

Methodische Aspekte zur hämatoflourometrischen Messung von Zinkprotoporphyrin in der Diagnostik des Eisenmangels. Z Ernährungswiss 1998;37(1):126-127.

Heins U, Jontofsohn E, Koebnick C, Leitzmann C:

Versorgung von Vollwertköstlerinnen mit Zink in der Schwangerschaft. Z Ernährungswiss 1998;37(1):125.

Unkelbach B, Koebnick C, Heins U, Leitzmann C:

Folatstatus in der Frühschwangerschaft von Vollwertköstlerinnen. Z Ernährungswiss 1998;37(1):86-87.

Koebnick C:

Mit Vollwert-Ernährung durch die Schwangerschaft – eine Studie wird vorgestellt. Tagungsband Gesunde Kinder – (k)ein Problem, Verband für unabhängige Gesundheitsberatung e.V., Gießen 1997.

Strassner C, Koebnick C, Szyperski T, Leitzmann C:

Kochen ist tabu: Die Gießener Rohkost-Studie. UGB-Forum 1996;13 (6):340-3.

Koebnick C, Dörries S, Strassner C, Leitzmann C:

Ernährungs- und Gesundheitsverhalten von Menschen mit überwiegender Rohkost-Ernährung. Z Ernährungswiss 1995;34(1):53.

## Danksagung

Bei dem zweiten Teil der Gießener Vollwert-Ernährungs-Studie handelt es sich um ein Projekt, welches in diesem Umfang nur durch die Hilfe sehr vieler Personen durchgeführt werden konnte. Das ganze Projekt wäre nicht ohne die Frauen möglich gewesen, die sich zur Studienteilnahme gemeldet und motiviert durch die ganze Schwangerschaft hindurch den teilweise großen Aufwand der Untersuchungen und der zahlreichen Fragebögen auf sich genommen haben. All diesen Frauen möchte ich an dieser Stelle ganz herzlich danken.

Ein ganz besonderer Dank gilt Prof. C. Leitzmann, durch dessen Initiative die vorliegende Studie überhaupt erst durchgeführt werden konnte. Prof. C. Leitzmann war mir bereits in den Jahren meines Studiums menschlich und fachlich ein großes Vorbild und ein guter Lehrer, an dem ich besonders seinen Umgang mit Menschen und seine Fähigkeit ein positives und konstruktives Arbeitsklima zu schaffen, bewundert habe. Ihm möchte ich an dieser Stelle für das mir entgegengebrachte Vertrauen und die Möglichkeit danken mit meiner Kollegin Ulrike Heins selbständig und eigenverantwortlich eine Studie dieses Umfanges durchzuführen. Außerdem möchte ich ihm für die Zeit danken, die Prof. Leitzmann trotz seines Ruhestandes stets für mich und meine Kollegin hatte.

Aber auch meiner Kollegin Ulrike Heins möchte ich für die schöne und effektive Zusammenarbeit danken, durch die alle Schwierigkeiten dieses umfangreichen Projektes mühelos gemeistert werden konnten. Auch für Ulrikes außerordentlichen Arbeitseinsatz während meiner krankheits- und schwangerschaftsbedingten Ausfallzeiten möchte ich ihr an dieser Stelle besonders danken.

Unseren Diplomandinnen Esther Jontofsohn, Jutta Saalfrank und Birgit Unkelbach sowie den vielen Ärzten und Praktikantinnen, die uns im Rahmen des Projektes geholfen haben, mit teilweise großem Arbeitseinsatz und oft zu sehr früher Stunde die Blutentnahmen durchzuführen, gilt mein Dank.

Dr. Ingrid Hoffmann und Dr. Maike Groeneveld danke ich für die konstruktiven fachlichen Gespräche in der Planungsphase der Studie und die gute Zusammenarbeit im Studienverlauf. Dr. Jan Lindemans und Prof. Dr. Sunita Wickramasinghe bin ich für die gute Zusammenarbeit und die Durchführung eines Teils der Laboruntersuchungen dankbar. Für die unkomplizierte Hilfe und die wertvollen Anregungen in der Phase der Datenauswertung danke ich Dr. Pieter C. Dagnelie.

Großer Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinem Ehemann Wolfgang für die liebevolle Unterstützung während der gesamten Zeit der Promotion. Meiner Tochter Sonja bin ich für ihre unendliche Geduld mit ihrer Mama dankbar und der Kindergruppe „Die Mäuschen“ danke ich für die wertvolle Erziehungsarbeit während der Endphase der Promotion.