

Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Einfluss der 12-wöchigen Substitution eines Vitalstoffkonzentrates  
auf die Plasmakonzentrationen von B-Vitaminen und Homocystein  
sowie Auswirkungen auf die Hämodynamik  
bei gesunden Erwachsenen**

*Dissertation*

*zur Erlangung des akademischen Grades*

*Doktor der Medizin (Dr. med.)*

*für das Fachgebiet*

*Innere Medizin*

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Sarah Mehlhorn

geboren am 16.12.1994 in Stollberg

Betreuer: apl. Prof. Dr. med. habil. Hendrik Schmidt und Prof. Dr. phil. habil. Kuno Hottenrott

Gutachter: Prof. Dr. med. K. Ridwelski, Magdeburg

Prof. Dr. med. K. Werdan

14.01.2020

03.03.2021

## Referat

Ein nicht unerheblicher Anteil der deutschen Bevölkerung weist bei subjektivem Gesundheitsgefühl eine Unterversorgung an B-Vitaminen, bis hin zu manifesten Mangelzuständen auf. Daraus resultierend erfreuen sich Nahrungsergänzungsmittel wachsender Beliebtheit. Es bedarf klinischer Studien zur Prüfung der Wirksamkeit der verschiedenen Supplemente, um den Verbraucher bei einer individuell richtigen Auswahl zu unterstützen. Dies sollte auch die Intention dieser Arbeit werden.

In der randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie „Einfluss der 12-wöchigen Einnahme eines Vitalstoffkonzentrats auf Lebensqualität und Stimmung sowie gesundheitsrelevante Vital- und Blutparameter und das Immunsystem“ beobachteten wir 83 gesunde Erwachsene über einen Interventionszeitraum von 3 Monaten. In die statistische Auswertung konnten die Daten von 74 Probanden einfließen, von denen jeweils 37 der Verum- oder Placebogruppe angehörten. Beide Gruppen applizierten während des Untersuchungszeitraums täglich 10 ml eines fluiden Saftkonzentrats, wobei das Placebopräparat im Vergleich zum Verum keinerlei Wirkstoffanreicherung enthielt. Die klinischen Untersuchungen der Studienkohorte fanden im Rahmen einer Eingangs- und einer Abschlussuntersuchung an den Standorten Halle/Saale und Kassel statt. Schwerpunkt dieser Arbeit bildeten die Auswirkungen des Präparates auf die Plasmakonzentrationen der Vitamine B<sub>12</sub> und Folsäure sowie die metabolisch assoziierte Aminosäure Homocystein. Zudem wurden oszillometrische Messungen hämodynamischer Parameter durchgeführt, um Hinweise auf protektive Funktionen im kardiovaskulären System zu gewinnen. Innerhalb der Verumgruppe konnten signifikante Erhöhungen der Vitamin B<sub>12</sub>-Plasmaspiegel um  $46,4 \pm 42,0$  pmol/l und Folsäurewerte um  $49,9 \pm 20,0$  nmol/l erreicht werden. Zeitgleich sanken die Werte des Homocysteins um  $2,4 \pm 2,4$  µmol/l. Die Ergebnisse sprechen für eine angemessene Stoffkonzentration bei guter Absorption und Verwertung der supplementierten Vitamine. In den hämodynamischen Parametern zeigten sich kaum Veränderungen nach Abschluss der Intervention. Innerhalb der Placebogruppe sanken der zentrale systolische und diastolische Blutdruck signifikant um  $3,9 \pm 10,2$  mmHg bzw.  $2,8 \pm 4,9$  mmHg. Die Probanden der Verumgruppe zeigten im Mittel einen Anstieg des AIX@75 um  $5,4 \pm 16,1$  %.

Aufgrund des zelltoxischen und gefäßschädigenden Potenzials des Homocysteins, dessen Plasmakonzentration durch die Intervention reduziert werden konnte, erscheint die getestete Nahrungsergänzung für gesunde Erwachsene mit Defiziten im Vitamin B - Haushalt sinnvoll.

Mehlhorn, Sarah: Einfluss der 12-wöchigen Substitution eines Vitalstoffkonzentrates auf die Plasmakonzentrationen von B-Vitaminen und Homocystein sowie Auswirkungen auf die Hämodynamik bei gesunden Erwachsenen. Halle/Saale, Univ., Med. Fak.; Diss., 80 Seiten, 2019

## **I. Inhaltsverzeichnis**

<b>I. Inhaltsverzeichnis</b>	<b>I</b>
<b>II. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>IV</b>
<b>III. Selbstständigkeitserklärung</b>	<b>VI</b>
<b>IV. Erklärung über frühere Promotionsversuche</b>	<b>VII</b>
<b>V. Curriculum Vitae</b>	<b>VIII</b>
<b>VI. Danksagung</b>	<b>IX</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Vitaminergänzungen bei gesunden Erwachsenen.....	1
1.2 B-Vitamine .....	3
1.2.1 Vitamin B <sub>12</sub> - Cobalamin.....	3
1.2.2 Vitamin B <sub>9</sub> – Folsäure .....	5
1.2.3 Unterversorgung und Mangel der Vitamine B <sub>12</sub> und Folsäure innerhalb der deutschen Bevölkerung .....	7
1.3 Homocystein.....	9
1.4 Parameter der Hämodynamik und Gefäßelastizität als prognostische Marker für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko.....	11
1.4.1 Pathophysiologische Grundlagen .....	11
1.4.2 Klinische Einordnung und Bedeutung hämodynamischer Parameter.....	14
1.4.3 Oszillometrische Messung hämodynamischer Parameter mithilfe des Mobil-O-Graph® PWA (IEM, Stolberg, Germany) .....	16
1.5 Das alternde Gefäßsystem und die Rolle des Homocysteins in dessen Progression ..	17
1.5.1 Pathophysiologie des alternden Gefäßsystems und Atherosklerose .....	17
1.5.2 Auswirkungen des Homocysteins auf den Prozess der Gefäßalterung.....	21
<b>2. Zielstellung</b> .....	<b>23</b>
<b>3. Material und Methodik</b> .....	<b>24</b>

3.1	Studienaufbau.....	24
3.2	Vitalstoffkonzentrat .....	24
3.3	Ethikkommissionsantrag.....	26
3.4	Rekrutierung und Auswahl der Probanden .....	26
3.5	Ausschlusskriterien.....	27
3.6	Verteilung auf Verum- und Placebogruppe .....	29
3.7	Studienablauf.....	29
3.7.1	Ernährungstagebuch.....	30
3.7.2	BFS, SF-36 und Krankheitstagebuch.....	30
3.7.3	Apparative Diagnostik.....	30
3.7.4	Blutentnahme und -analyse.....	31
3.8	Statistische Auswertung .....	34
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>35</b>
4.1	Probandencharakteristik.....	35
4.1.1	Baselinecharakteristik.....	35
4.1.2	BIA-Messung und Nährstoffanalyse .....	38
4.2	Blutwertanalysen.....	40
4.2.1	Vitamin B <sub>12</sub> und Folsäure .....	40
4.2.2	Homocystein .....	41
4.2.3	Korrelation der B-Vitamine mit Homocystein.....	42
4.2.4	Pulswellenanalyse.....	46
4.2.5	Korrelation der B-Vitamine und Homocystein mit der Hämodynamik und Gefäßsteifigkeit .....	48
<b>5.</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>50</b>
5.1	Methodik.....	50
5.2	Ergebnisse.....	55
5.2.1	Ergebnisse der Blutwertanalysen.....	55
5.2.2	Einfluss der Substitution auf die Parameter der Hämodynamik und Gefäßelastizität.....	56

5.3	Bedeutung der B-Vitamin-Substitution und Homocysteinspiegelsenkung in der Prävention und Therapie kardiovaskulärer Pathologien.....	57
5.4	Fazit zur 12-wöchigen Substitution des fluiden Vitalstoffkonzentrates „Myeniola“ ..	58
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>60</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>62</b>
<b>8.</b>	<b>Thesen.....</b>	<b>66</b>
<b>9.</b>	<b>Anlagen .....</b>	<b>67</b>
9.1	Newsletter der Firma Eismann.....	67
9.2	E-Mail zur Eingangsuntersuchung.....	69
9.3	Probandeninformation .....	70
9.4	Ernährungsprotokoll.....	73
9.5	Messdatenblatt.....	77
9.6	Probandenauswertung.....	78

## II. Abkürzungsverzeichnis

<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>Ado</b>	Adenosin
<b>AIx/AIx@75</b>	Augmentationsindex/Augmentationsindex @75
<b>AP</b>	Augmentationsdruck
<b>ATP</b>	Adenosin 3-Phosphat
<b>BFS</b>	Befindlichkeitskala
<b>BHMT</b>	Betain-Homocystein-Methyltransferase
<b>BIA</b>	Bioelektrische Impedanzanalyse
<b>bspw.</b>	Beispielsweise
<b>bzw.</b>	beziehungsweise
<b>CBS</b>	Cystathion-beta-Synthase
<b>(c)DBP</b>	(zentraler) diastolischer Blutdruck
<b>CGL</b>	Cystathionase
<b>CI</b>	Herzindex
<b>(c)PP</b>	(zentraler) Pulsdruck
<b>CRP</b>	C-reaktives Protein
<b>(c)SBP</b>	(zentraler) systolischer Blutdruck
<b>DGE</b>	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
<b>Diff.</b>	Differenz
<b>DANN</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>ECLIA</b>	Elektrochemilumineszenz-Immunoassay
<b>ER</b>	Endoplasmatisches Retikulum
<b>ESC</b>	European Society of Cardiology
<b>ESH</b>	European Society of Hypertension
<b>GLDH</b>	Glutamatdehydrogenase
<b>Hcy</b>	Homocystein
<b>HMV</b>	Herzminutenvolumen
<b>HR</b>	Herzfrequenz
<b>HRV</b>	Herzratenvariabilität
<b>ICAM</b>	Intracellular adhesion molecule
<b>IL</b>	Interleukin
<b>KHK</b>	Koronare Herzkrankheit
<b>LDL</b>	Low Density Lipoprotein

<b>MCP</b>	monocyte chemoattractant protein
<b>Met</b>	Methionin
<b>MS</b>	Methioninsynthase
<b>MTHFR</b>	Methylentetrahydrofolat-Reduktase
<b>NAD<sup>+</sup>/NADH</b>	Nicotinamidadenindinukleotid
<b>NH<sub>3</sub></b>	Ammoniak
<b>NO</b>	Stickstoffmonoxid
<b>NRV</b>	Nutrient Reference Value
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Superoxidanion
<b>PAF</b>	platelet adhesion factor
<b>PDGF</b>	platelet derived growth factor
<b>PWA</b>	Pulswellenanalyse
<b>PWV</b>	Pulswellengeschwindigkeit
<b>RC</b>	Reflexionskoeffizient
<b>SAH</b>	S-Adenosylhomocystein
<b>SAM</b>	S-Adenosylmethionin
<b>SCF</b>	Scientific Committee on Food
<b>SF-36</b>	Short Form Gesundheitsfragebogen 36
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>(T)PR</b>	(totaler) peripherer Gefäßwiderstand
<b>u.a.</b>	unter anderem
<b>u.ä.</b>	und ähnliches
<b>UL</b>	Tolerable Upper Intake Level, sichere Gesamttageszufuhr
<b>VCAM</b>	vascular cell adhesion molecule
<b>z.B.</b>	zum Beispiel

## **1. Einleitung**

Der 20-jährige Leistungssportler, ein vom Berufsstress geplagter Arbeitnehmer, die mit Alterserscheinungen konfrontierte Seniorin - auf den ersten Blick sind sie Personen, die völlig verschiedenen Bevölkerungsgruppen angehören und sich wenig ähneln. Und doch haben sie eine Gemeinsamkeit. Sie alle gehören zur breiten Zielgruppe einer Produktlinie, welche stetig wächst: Nahrungsergänzungsmittel. Die Nationale Verzehrsstudie II belegte im Jahr 2008, dass fast jeder dritte Deutsche Supplemente dieser Art zu sich nimmt [1]. Mittlerweile wird der Markt von einer unüberschaubaren Anzahl an Nahrungsergänzungen überflutet. Längst findet man sie nicht mehr nur in der Apotheke, sondern ebenso ganz selbstverständlich im Ladenregal neben unseren Grundnahrungsmitteln. Mit sich bringen sie eine Vielzahl von Versprechungen, die das Leben der Konsumenten verbessern, Leistungen steigern oder sogar Krankheiten verhindern und heilen sollen. Dem Verbraucher wird regelrecht das Gefühl vermittelt, dass eine ausreichend gesunde Ernährung mit den üblichen, vertrauten Lebensmitteln nicht mehr möglich ist. In gewisser Weise spielt man mit den Sorgen der Leute und wirbt mit der Prävention verschiedener Zivilisationskrankheiten.

Zu den Klassikern zählen dabei kardiovaskuläre Leiden. Nahezu jeder kennt sie aus dem eigenen Umfeld. In Europa sind sie noch immer bei Männern und Frauen die Todesursache Nummer 1, jedes Jahr sterben auf unserem Kontinent ca. 4 Millionen Menschen an ihren Folgen [2]. Die Zusammenhänge zwischen einer suboptimalen B-Vitamin-Versorgung und der Begünstigung kardiovaskulärer Erkrankungen durch Gefäßveränderungen werden vermutet. Jedoch eignet sich längst nicht jede Vitaminergänzung zum Ausgleich gewisser Defizite. Zu qualitativ und quantitativ uneinheitlich ist das Angebot nährstoffangereicherter Produkte. Umso wichtiger ist es die einzelnen Präparate in klinischen Studien auf ihre Wirksamkeit zu überprüfen und dem Verbraucher damit eine individuell richtige Auswahl zu erleichtern.

### **1.1 Vitaminergänzungen bei gesunden Erwachsenen**

In unseren Untersuchungen testeten wir die Supplementierung einer Multivitaminergänzung bei gesunden Erwachsenen.

Schwere Vitaminmangelerkrankungen, wie beispielsweise Skorbut und Pellagra, sind in der westlichen Welt selten zu finden. Ein großer Anteil der Bevölkerung weist jedoch einen Vitaminmangel im subsymptomatischen Bereich auf. Dieser stellt einen bedeutenden Risikofaktor für chronische Erkrankungen wie kardiovaskuläre Leiden, Osteoporose oder Krebserkrankungen dar [3].

Die bisher empfohlenen Referenzwerte für Vitamine werden oft als zu niedrig eingeschätzt. Zahlreiche Studien haben sich in den letzten Jahren mit dieser Annahme beschäftigt und den

Nutzen einer Vitaminergänzung auch für offensichtlich gesunde Personen hinterfragt. Dabei konnten in mehreren Punkten Zusammenhänge optimierter Vitaminwerte und einem positiven Outcome für die Probanden nachgewiesen werden. Graham und O'Callaghan berichteten von der präventiven Funktion der Folsäure gegenüber kardiovaskulären Erkrankungen [4]. Tak et al. schrieben dem Vitamin D ähnlichen Einfluss diesbezüglich zu [5], ebenso wie es laut Wilkins et al. die Stimmung verbessern und Depressionen entgegenwirken kann [6]. Lampe sprach von einer Stärkung des Immunsystems durch die Vitamine C und E, Folsäure und  $\beta$ -Carotine. Es konnte eine Abnahme der Infektionshäufigkeit und -schwere beobachtet werden [7]. Daraus resultierend erfreuen sich Nahrungsergänzungen wachsender Beliebtheit, auch bei subjektiv gesunden Personen.

Eine im Auftrag des Bundes für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde e.V. durchgeführte Marktanalyse zeigte, dass zwischen April 2015 und März 2016 in Deutschland 177 Millionen Verpackungen an Nahrungsergänzungsmitteln verkauft wurden. Dies entspricht einem Umsatz von 1,175 Milliarden Euro. Wie in den Vorjahren behaupteten sich dabei Vitaminergänzungen mit einem Marktanteil von ca. 70% als Spitzenreiter. Am beliebtesten waren Vitamin C-Produkte, direkt gefolgt von Multivitaminergänzungen mit und ohne Mineralstoffzusatz sowie von Vitamin B-Komplex- und Einzelpräparaten [8].

Definiert sind Nahrungsergänzungsmittel nach der Nahrungsergänzungsmittelverordnung vom 24. Mai 2004 (BGBl. I S. 1011), die zuletzt durch Artikel 11 der Verordnung vom 5. Juli 2017 (BGBl. I S. 2272) geändert worden ist:

- „(1) Nahrungsergänzungsmittel im Sinne dieser Verordnung ist ein Lebensmittel, das
1. dazu bestimmt ist, die allgemeine Ernährung zu ergänzen,
  2. ein Konzentrat von Nährstoffen oder sonstigen Stoffen mit ernährungsspezifischer oder physiologischer Wirkung allein oder in Zusammensetzung darstellt und
  3. in dosierter Form, insbesondere in Form von Kapseln, Pastillen, Tabletten, Pillen und anderen ähnlichen Darreichungsformen, Pulverbeuteln, Flüssigampullen, Flaschen mit Tropfeinsätzen und ähnlichen Darreichungsformen von Flüssigkeiten und Pulvern zur Aufnahme in abgemessenen kleinen Mengen, in den Verkehr gebracht wird.
- (2) Nährstoffe im Sinne dieser Verordnung sind Vitamine und Mineralstoffe, einschließlich Spurenelemente.“ [9]

## 1.2 B-Vitamine

Schwerpunkt dieser Arbeit bilden Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure mit ihrer Funktion im Homocysteinemetabolismus. Als Grundlage dieser Untersuchungen substituierten unsere Probanden ein Vitalstoffpräparat, welches Vitamin B<sub>12</sub> in Form von Cyanocobalamin und Folsäure als Pteroylmonoglutaminsäure enthielt.

### 1.2.1 Vitamin B<sub>12</sub> - Cobalamin

Als Cobalamine werden Vitamin B<sub>12</sub>-aktive Verbindungen bezeichnet, da ihr Zentralatom von dreiwertigem Cobalt mit der Koordinationszahl 6 gebildet wird. Umgeben wird das Cobaltion von fünf Stickstoffatomen und einem in der Regel austauschbaren Liganden. Vier Stickstoffatome bilden ein spezielles Ringsystem, den Corrinring. Das verbleibende Stickstoffatom gehört zu einem 5,6-Dimethyl-benzimidazol-Ring, welcher nucleotidartig an den Corrinring gebunden ist. Vitamin B<sub>12</sub> ist als Cofaktor verschiedener Enzyme an chemischen Reaktionen beteiligt. Es wirkt als Redoxsystem. Die Wertigkeit des Cobalts kann dabei ein-, zwei- oder dreiwertig sein [10].

Der Name der jeweiligen Vitamin B<sub>12</sub>-Form wird durch den sechsten gebundenen Liganden bestimmt. Möglich sind Cyanid, Methyl, Hydroxyl, 5'-Adenosyl oder 5'-Desoxyadenosyl. Die natürlichen Formen sind das Hydroxocobalamin, Methylcobalamin und Adenosylcobalamin. Methyl- und Adenosylcobalamin sind dabei die beiden Coenzym-Formen, welche im Körper aktiv werden.

Hydroxocobalamin kann problemlos in eine der beiden aktiven Formen umgewandelt werden und weist die beste Depotwirkung auf.

Adenosylcobalamin kommt in allen Geweben, wie Muskeln und Organen, vor. Es wird in den Mitochondrien aktiv und sorgt somit für die Zellenergie, aber auch für die Gehirnentwicklung, Hydratation, Wachstum und Muskelaufbau.

Hydroxocobalamin und Methylcobalamin finden sich im Blut und Rückenmark. Methylcobalamin wirkt im Zellplasma. Es spielt u.a. eine wichtige Rolle als Neurotransmitter, in der Genregulation, in der Regeneration und im Schutz von Nerven und Gehirn sowie in der Blutbildung. Resultierend aus den verschiedenen Wirkungsbereichen scheint eine Supplementierung sinnvoll, die sowohl Methyl- als auch Adenosylcobalamin zur Verfügung stellt. Dies funktioniert entweder über Hydroxocobalamin oder über das synthetische Cyanocobalamin. Letzteres ist leicht und billig zu produzieren und gleichzeitig sehr stabil. Es ist über Jahre hinweg intensiv erforscht worden. Cyanocobalamin hat sich als gut vom Körper verwertbar und damit wirksam dargestellt. Ein entscheidender Nachteil gegenüber einer direkten Gabe der beiden aktiven Formen konnte nicht nachgewiesen werden [11]. Diskutiert wird allerdings

eine gewisse Toxizität, da die abgespaltene Cyano-Gruppe im Organismus Cyanid bilden kann. Die Mengen sind allerdings so gering, dass sie klinisch zu vernachlässigen sind. Für die Umwandlung dieses synthetischen Cobalamins werden vier Stoffwechselschritte benötigt. Dies reduziert die Bioverfügbarkeit und schafft Angriffspunkte für zusätzliche Beeinträchtigung, beispielsweise durch bestimmte Erkrankungen.

Zwar wird Cyanocobalamin gut resorbiert, jedoch wird auch ein großer Teil über den Urin ausgeschieden. Zusätzlich hat es eine deutlich schlechtere Depotwirkung als Hydroxocobalamin.

Hydroxocobalamin soll desweiteren einen Vorteil in der Cyanidentgiftung haben, was sich beispielsweise bei vorbelasteten Rauchern positiv auswirken kann. Außerdem ist es Fänger von Stickoxiden, welche nitrosativen Stress verantworten und zur Entstehung vieler Krankheiten beitragen [12].

Abschließend kommt man zu dem Schluss, dass bei gesunden, unvorbelasteten Personen das günstigere Cyanocobalamin eine gute Alternative zum Hydroxocobalamin darstellt, während letzteres bei bestimmten Personengruppen, beispielsweise Rauchern, bevorzugt zum Einsatz gebracht werden sollte.

Biosynthetisch kann Vitamin B<sub>12</sub> nur von Mikroorganismen gebildet werden. Tiere oder Pflanzen sind dazu nicht in der Lage.

Für eine effiziente Absorption aus dem Darm wird der „Intrinsic Factor“ als Transportprotein benötigt. Dieser wird im Magen gebildet. Nach Erkrankungen oder einer operativen (Teil-) Resektion des Magens, kann es daher zu Mangelerscheinungen kommen. Weitere mögliche Ursachen für ein Vitamin B<sub>12</sub>-Defizit sind vegetarische Ernährung, Medikamentenwechselwirkungen oder ein Parasitenbefall im Darm.

Besonders reichhaltige Vitamin B<sub>12</sub>-Quellen sind Fleisch, Milchprodukte, Eigelb und Fisch (Tab.1). Bis zu 1 mg des Vitamins kann in der Leber gespeichert werden. Daher ist auch die Leber von Tieren sehr reich an Cobalamin [10]. Die nahezu einzige pflanzliche Vitamin B<sub>12</sub>-Quelle sind Algen.

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE) empfiehlt für gesunde Erwachsene eine Tageszufuhr von 4 µg/Tag [13]. Im Zuge einer Vereinheitlichung europäischer Bestimmungen wurde in der Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 der NRV (Nutrient Reference Value) eingeführt. Dieser äußert sich ebenso über die Menge von Vitaminen, Mineralstoffen und Spurenelementen, welche täglich zur Bedarfsdeckung aufgenommen werden sollte. Für Vitamin B<sub>12</sub> wird ein NRV von 2,5 µg angegeben [14]. Bislang konnten keine Nebenwirkungen einer erhöhten Tageszufuhr von Cobalaminen festgestellt werden. Daher lässt das Scientific Committee on Food (SCF) die Höhe des Tolerable Upper Intake Level (UL, sichere Gesamttageszufuhr) für Vitamin B<sub>12</sub> offen [15].

**Tab. 1:** Beispiele für den Vitamin B<sub>12</sub> – Gehalt einzelner Lebensmittel  
(in Anlehnung an [16])

Lebensmittel	in µg/100g	% der empfohlenen Tagesdosis B <sub>12</sub> eines Erwachsenen
Rinderleber	65,0	1625
Rindfleisch, mager	5,0	125
Forelle	4,5	113
Emmentaler	3,1	77
Lachs	2,9	73
Hühner-Eigelb	2,0	50
Schweinefleisch, mager	1,0	25
Kuhmilch	0,4	10

Der untere Referenzbereich für das Gesamt-Vitamin B<sub>12</sub> im Serum wird derzeit bei 156 – 400 pmol/l gesehen. Ein Mangel kann aber auch bei Vorliegen dieser Werte nicht ausgeschlossen werden [17]. Man befindet sich in einem Graubereich. Klinische Symptome eines Defizits zeigen sich erst dann, wenn die Körperspeicher weitestgehend geleert sind. Zu den Auffälligkeiten gehören Müdigkeit und Erschöpfung, Immunschwäche und Stimmungsschwankungen. Starke Mangelzustände führen schließlich bis hin zu einer Anämie, Gewichtsverlust, Neuropathien, Sehstörungen, Depressionen, Verwirrtheit u.ä. [18].

### 1.2.2 Vitamin B<sub>9</sub> – Folsäure

Folsäure wird chemisch gesehen aus einem Pteringerüst, der *p*-Aminobenzoesäure und der Glutaminsäure gebildet. Das Pterin besteht aus einem Pyrimidin- und einem Pyrazinring. Sie enthalten Stickstoff und sind aneinander kondensiert. Die Glutaminsäure spielt eine wichtige Rolle für die Funktion der Folsäure. Es handelt sich um ein künstliches Produkt, welches streng genommen so in der Natur nicht vorkommt. Die natürlichen Formen, sogenannte Folate, sind ähnlich aufgebaut. Allerdings kann ihr Glutamatrest über eine gamma-Carboxylgruppe mit weiteren Glutamatmolekülen konjugiert sein. Während beim Menschen meist neun Glutaminsäurereste gebunden sind, kann die Zahl bei Folsäuren der Tiere, Pflanzen und Mikroorganismen höher liegen. Folate untereinander unterscheiden sich über den Hydrierungsgrad ihres Pteridinmoleküls, die Länge ihrer Glutamylnkette und die Substitution verschiedener C<sub>1</sub>-Ketten. Letztere sind Bruchstücke, welche aus einzelnen Kohlenstoffatomen bestehen. Dazu gehören Methyl-, Formaldehyd- und Formiatreste.

Die physiologisch aktive Coenzym-Form des Vitamin B<sub>9</sub> ist die Tetrahydrofolsäure. Aufgrund ihrer Empfindlichkeit gegenüber Oxidation, ist sie sehr instabil. Sie kann in der Zelle über das Zwischenprodukt Dihydrofolsäure aus Folsäure gebildet werden. Erfolgt die Oxidation auf

anaerobem Weg, entstehen Sauerstoffradikale. Sowohl die Folsäure als auch ihre aktive Form sind empfindlich gegenüber erhöhten Temperaturen und Licht.

Die Aufgabe der Tetrahydrofolsäure liegt in der Übertragung von C<sub>1</sub>-Fragmenten, wie Methyl-, Hydroxymethyl- und Formylgruppen auf geeignete Akzeptoren.

Biologische Bedeutung kommt der aktiven Form beispielsweise bei der Umwandlung der Aminosäuren Serin und Glycin ineinander zu sowie beim Abbau von Glycin. Sie ist wichtig für die Biosynthese von Porphyrinen und von Pyrimidin- und Purinbasen der Nucleinsäuren.

Ein Folsäuremangel beeinträchtigt somit beispielsweise die Hämoglobin- und Nucleinsäurebiosynthese und stört die Neubildung von Thrombozyten. Fehler in Zellteilung, -wachstum und -reifung führen bis zur Zellentartung. Klinisch auffällig wird ein Defizit durch Schleimhautveränderungen, ein geschwächtes Immunsystem aufgrund verringerter Antikörperbildung oder durch Fortpflanzungsstörungen bis hin zu Fehlbildungen. Es kann zu einer hyperchromen makrozytären Anämie kommen [10].

Ähnlich wie bei Vitamin B<sub>12</sub> liegt die Hauptursache für einen Mangel in der ungenügenden Aufnahme von folsäurehaltigen Lebensmitteln (Tab. 2) oder in Störungen der Resorption in Duodenum und proximalem Jejunum und der Weiterverwertung im Stoffwechsel. Sie kann vom menschlichen Körper selbst nicht hergestellt werden.

Die DGE empfiehlt für gesunde Erwachsene eine Folatzufuhr von 300 µg/Tag. Der NRV-Wert liegt bei 200 µg/Tag [14].

Reich an Folaten sind beispielsweise Hülsenfrüchte, Getreideprodukte, Obst und Gemüse, aber auch verschiedene Fisch-, Fleisch- und Milchprodukte (Tab. 2). Die sichere Gesamttageszufuhr (UL) liegt laut SCF bei 1000 µg/Tag für gesunde Erwachsene [15].

Pteroylmonoglutamate, wie die synthetische Folsäure, werden zu mehr als 90% resorbiert. Polyglutamatverbindungen haben dagegen lediglich eine Absorptionsrate von ca. 20%. Dies ist begründet durch die unvollständige enzymatische Spaltung, aufgrund begrenzter Konjugaseaktivität [19]. Eine Supplementierung der aktiven N-5-Methyl-Tetrahydrofolsäure scheint bei Personen mit Störungen in der enzymatischen Verwertung der Folsäure sinnvoll. Deren Dosierung ist jedoch relativ schwierig. In höheren Dosen soll sie die Entstehung von Tumoren begünstigen können [10].

**Tab. 2:** Beispiele für den Folsäure – Gehalt einzelner Lebensmittel  
(in Anlehnung an [20])

<b>Lebensmittel</b>	<b>in µg/100g</b>	<b>% der empfohlenen Tagesdosis B12 eines Erwachsenen</b>
<b>Kichererbsen</b>	340,0	113
<b>Schweineleber</b>	136,0	45
<b>Haferflocken</b>	87,0	29
<b>Ei</b>	67,0	22
<b>Erdbeeren</b>	65,0	22
<b>Möhren</b>	55,0	18
<b>Gouda</b>	21,0	7
<b>Kartoffeln</b>	20,0	7
<b>Vollkornbrot</b>	14,0	5
<b>Äpfel</b>	12,0	4
<b>Rindfleisch</b>	10,0	3
<b>Lachs</b>	3,4	1

Wie auch bei Vitamin B<sub>12</sub> ist es diffizil einen genauen Serum-Referenzbereich für Folsäure anzugeben. Für gesunde europäische Erwachsene geht man in einem Bereich von 8,6 nmol/l bis 36 nmol/l von einer ausreichenden Versorgung aus [21].

### **1.2.3 Unterversorgung und Mangel der Vitamine B<sub>12</sub> und Folsäure innerhalb der deutschen Bevölkerung**

Die Häufigkeit von Defiziten im Vitaminhaushalt wird innerhalb der deutschen Bevölkerung weitestgehend unterschätzt. Die Nationale Verzehrsstudie II zeigt auf, dass im Mittel 8,2 % der Männer und 26,1 % der Frauen die von der DGE empfohlenen Referenzwerte bezüglich der täglichen Vitamin B<sub>12</sub>-Zufuhr nicht erreichen. Betrachtet man die Folsäurewerte, werden diese Angaben noch drastischer. 79,0 % der Männer und 85,8 % der Frauen bleiben unter der empfohlenen Tageszufuhr. In Tabelle 3 wird deutlich, dass ebenso wie ältere Menschen auch Personen im jungen und mittleren Lebensalter betroffen sind [1].

**Tab. 3:** Anzahl der Personen in Prozent mit einer Vitamin B<sub>12</sub>- bzw. Folsäurezufuhr unterhalb der empfohlenen DGE- Referenzwerte (in Anlehnung an [1])

	Geschlecht	Lebensalter in Jahren					
		14-18	19-24	25-34	35-50	51-64	65-80
Vitamin B <sub>12</sub>	<i>Männer</i>	8,1	7,4	6,8	8,4	7,9	9,8
	<i>Frauen</i>	33,5	32,7	26,4	24,5	23,0	26,3
Folsäure	<i>Männer</i>	65,9	71,4	74,4	79,3	80,5	80,5
	<i>Frauen</i>	77,8	79,5	80,6	87,4	86,8	90,8

Eine Vitaminunterversorgung ist dabei nicht automatisch mit einem Vitaminmangel gleichzusetzen, auch wenn die Begriffe häufig synonym verwendet werden. Die Unterversorgung beschreibt lediglich den Zustand, in dem die empfohlene Referenzmenge einer täglichen Zufuhr des Vitamins mengenmäßig unterschritten wird. Von einem Vitaminmangel spricht man, wenn klinisch relevante, messbare Störungen oder charakteristische Mangelsymptome auftreten. Jeder Betroffene einer Vitaminunterversorgung ist dabei einem hohen Risiko eines funktionellen Vitaminmangels ausgesetzt. Die Prävalenzangabe für einen solchen laborchemisch erfassbaren Mangel liegt für Vitamin B<sub>12</sub> zwischen 5 und 30 %. Von einem Folsäuremangel könnten fast zwei Drittel der deutschen Bevölkerung betroffen sein [22].

### 1.3 Homocystein

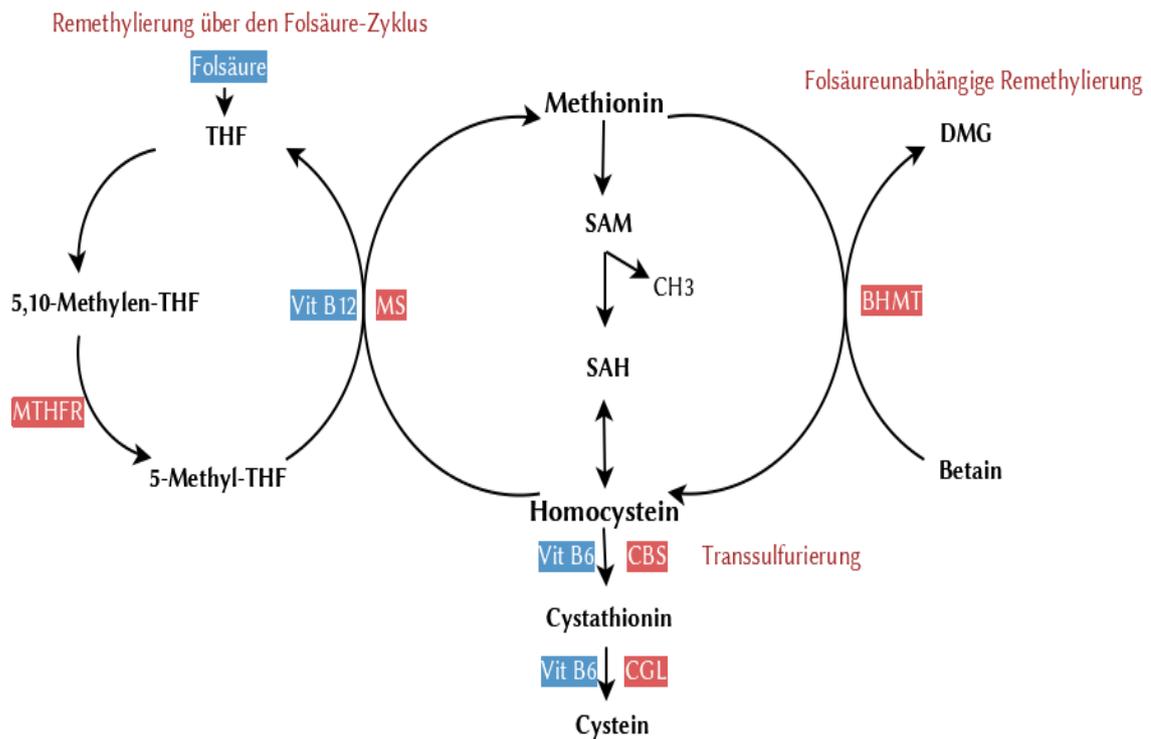
Als nicht-proteinogene schwefelhaltige Aminosäure findet sich das Homocystein in freier (1-2%), proteingebundener (70-90%) und nicht-proteingebundener (5-10%) Form zirkulierend im Plasma.

Es entsteht zunächst als Intermediärprodukt während des Stoffwechselzyklus der essentiellen Aminosäure Methionin. In Gegenwart von Adenosin 3-Phosphat (ATP) kann diese zu S-Adenosylmethionin (SAM) umgewandelt werden und somit als Methylgruppendonor bei einer Vielzahl von biologischen Reaktionen dienen. Wird die Methylgruppe des SAM abgegeben, so entsteht daraus S-Adenosylhomocystein (SAH), welches letztlich zu Homocystein hydrolysiert werden kann (Abb. 1).

Da Homocystein zytotoxisch wirkt, sollte seine Konzentration in der Zelle möglichst niedrig gehalten werden und unterliegt unter physiologischen Bedingungen einer strengen Kontrolle. Möglich ist dies durch Remethylierung, Abbau des Homocysteins und Export aus der Zelle.

Die Remethylierung von Homocystein zu Methionin wird durch die Methioninsynthase (MS) und deren Kofaktor Methylcobalamin metabolisiert. An dieser Stelle wird die Bedeutung der zuvor genannten B-Vitamine für die Regulierung des Homocysteinstoffwechsels deutlich. Durch die Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR) kann aus 5,10-Methylentetrahydrofolat 5-Methyltetrahydrofolat gebildet werden. Letzteres stellt eine Methylgruppe zur Verfügung, welche anschließend auf die Methioninsynthase übertragen wird. Diese gibt sie wiederum an das Homocystein ab. Aus dem 5-Methyltetrahydrofolat entsteht während der Reaktion Tetrahydrofolat, welches seinerseits für weitere Reaktionen zur Verfügung steht. Einzig in Leber und Niere kann die Methylgruppe auch von Betain stammen und durch Betain-Homocystein-Methyltransferase (BHMT) auf das Homocystein übertragen werden (Abb. 1).

Der Abbau des Homocysteins erfolgt durch Transsulfurierung, wobei Vitamin B<sub>6</sub> als Cofaktor für das Enzym Cystathion-beta-Synthase (CBS) dient. Das dabei entstehende Cystathionin wird anschließend durch Cystathionase (CGL) irreversibel zu Cystein und alpha-Ketobutyrat aufgespaltet. Auch dieser Schritt ist Vitamin B<sub>6</sub> abhängig. Cystein kann daraufhin zu Glutathion, einem wichtigen Antioxidans, transformiert werden [23] (Abb.1).



**Abb. 1:** Homocysteinmetabolismus (in Anlehnung an [23])

Diese Vorgänge zeigen, dass sowohl bei der Remethylierung, als auch bei der Transsulfurierung die Vitamine B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub> und B<sub>12</sub> eine zentrale Rolle spielen. Als Konsequenz einer Unterversorgung ergibt sich ein Defizit in der Funktion der Enzyme, welche essenziell für den Abbau des Homocysteins in der Zelle sind. Kompensiert wird dies durch einen vermehrten Export des zytotoxischen Homocysteins aus der Zelle. Damit ist es vermehrt im Plasma nachweisbar.

Die Erhöhung des Homocysteins lässt sich in drei Stufen einteilen. Schwere (>100 µmol/l) Hyperhomocysteinämien finden sich zumeist nur bei seltenen genetisch bedingten Defekten, die homozygot beispielsweise die CBS oder MS betreffen. Im intermediären Bereich (>30 – 100 µmol) liegt die Ursache oft in heterozygoten Genmutationen, in stark ausgeprägten Vitaminmangelzuständen oder auch in hepatischen oder renalen Dysfunktionen.

Am häufigsten finden sich jedoch moderate (>12–30 µmol/l) Hyperhomocysteinämien, welche in der Vielzahl der Fälle schon durch latente Mängel an Vitamin B<sub>12</sub>, Folsäure und Vitamin B<sub>6</sub> hervorgerufen werden [24].

## 1.4 Parameter der Hämodynamik und Gefäßelastizität als prognostische Marker für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko

Für die Untersuchung klinischer Konsequenzen der Präparateinnahme, konzentrierten wir uns auf die Hämodynamik und das kardiovaskuläre System unserer Probanden.

Die Hämodynamik beschreibt die Strömungsmechanik des Blutes innerhalb des Blutgefäßsystems. Abhängig ist diese von verschiedenen Parametern, wie beispielsweise Blutzusammensetzung und -volumen, Herzzeitvolumen bzw. Strömungsgeschwindigkeit, aber auch von der Geometrie und Elastizität der Gefäße. Die Gefäßelastizität wird wiederum durch eigene Parameter charakterisiert und bildet einen Schwerpunkt unserer Untersuchungen. Daher wird sie im Weiteren teils gesondert erwähnt.

### 1.4.1 Pathophysiologische Grundlagen

Für die Einschätzung hämodynamischer und vaskulärer Eigenschaften bedient man sich verschiedener Parameter.

Von zentraler Bedeutung und als Charakteristikum weit verbreitet ist der Blutdruck. Er wird durch ein Zusammenspiel aus Herz- und Gefäßfunktion bestimmt. Der Blutdruck setzt sich aus einer systolischen (SBP) und einer diastolischen (DBP) Komponente zusammen. Ergänzt werden diese durch den mittleren arteriellen Druck (MBP), welcher einen phasenunabhängigen Mittelwert abbildet.

Die Herzfunktion wird durch das Herzminutenvolumen (HMV) bestimmt. Vereinfacht nutzt man die Formel:

$$\text{HMV} = \text{MBP} / \text{TPR}$$

Sie geht von einer kontinuierlichen gleichmäßigen Herzaktivität aus und zeigt den MBP als „stetige“ Blutdruckkomponente. MBP und DBP sind in allen Abschnitten des arteriellen Systems nahezu konstant. Die Gefäßfunktion wurde bis vor ca. 20 Jahren weitestgehend durch den peripheren Widerstand (TPR) beschrieben. Dieser bezieht sich auf die Konstriktion oder Relaxation der Arteriolen. Der TPR steht in engem Zusammenhang mit dem MBP und dieser wiederum mit dem DBP. Daraus resultierte lange die Annahme, dass vor allem der DBP wichtig ist zur Abschätzung kardiovaskulärer Folgeerkrankungen.

Mittlerweile wird jedoch dem SBP und dem Pulsdruck (PP) zunehmend Beachtung geschenkt. Der PP beschreibt die Blutdruckamplitude und damit die Differenz zwischen SBP und DBP. Sie zeigen die „pulsatile“ Blutdruckkomponente auf, welche viel eher der Physiologie des kardio-

vaskulären Systems entspricht. Auch diese Parameter werden durch funktionelle Eigenschaften von Herz und Gefäßen determiniert.

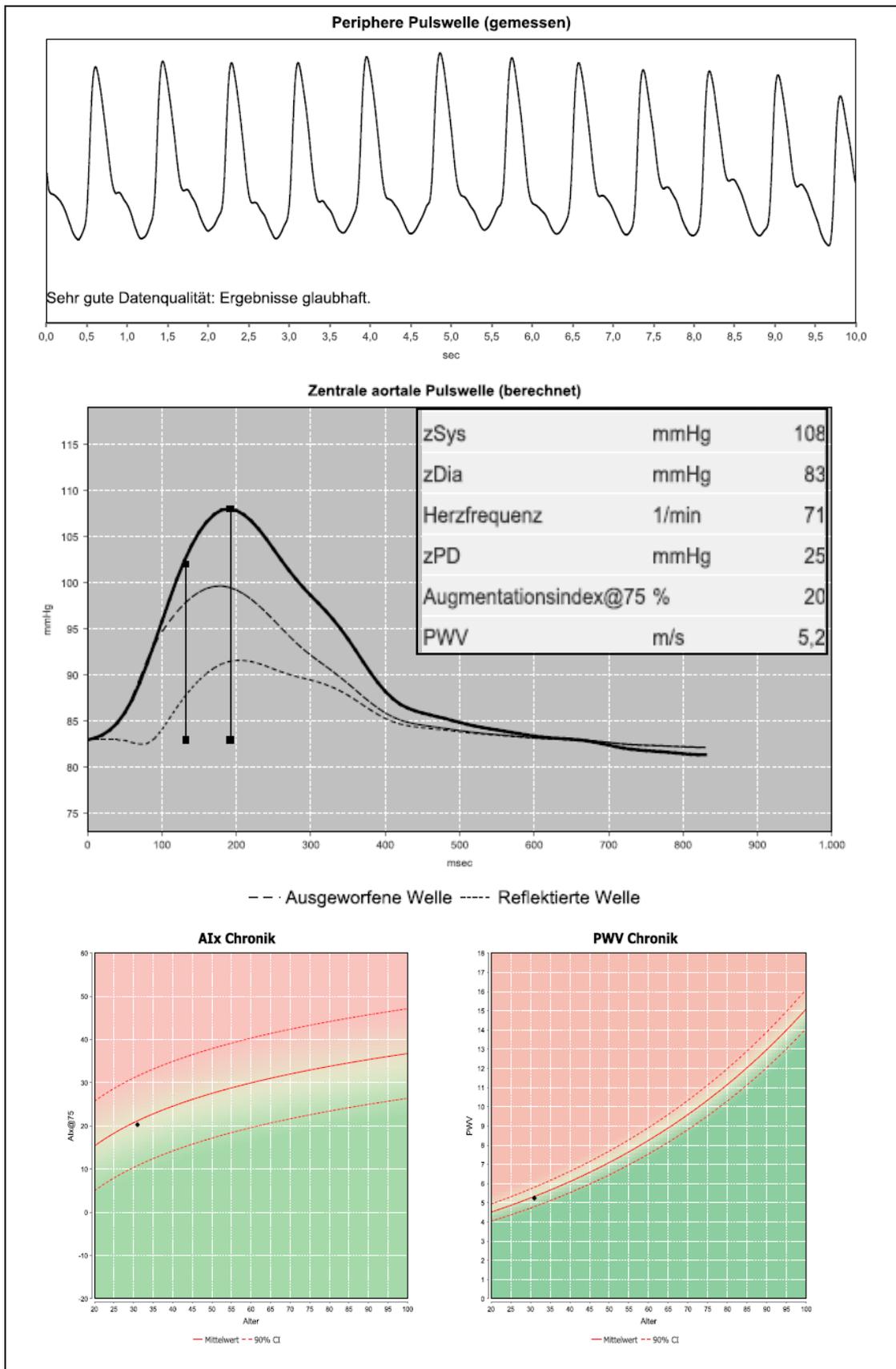
Für die Abschätzung der Gefäßfunktion zieht man nun zunächst die Pulswellengeschwindigkeit (PWV) heran, welche eine Aussage über die Elastizität der Arterien treffen kann. Physiologischerweise nimmt die Gefäßelastizität von großen zentralen Arterien (z.B. Aorta) hin zu kleinen peripheren Arterien (z.B. A. radialis) ab.

Weiterhin ist die Pulswellenreflexion aussagekräftig, deren Ausmaß und Zeitpunkt von Augmentationsindex (AIx) und Augmentationsdruck (AP) quantifiziert wird. Sie zeigt die Fähigkeit elastischer Arterien den pulsierenden Blutstrom zu dämpfen und in einen gleichmäßigen Volumenstrom zu verwandeln. Dies wird als Windkessel-effekt bezeichnet und ist besonders in der ascendierenden Aorta von Bedeutung.

In der Systole kontrahiert sich der linke Ventrikel. Die Blutsäule wird mit einer Geschwindigkeit von ca. 1 m/sec transportiert. Gleichzeitig wird eine Druckwelle erzeugt. Diese breitet sich mit einer Geschwindigkeit von 5-15 m/sec (=PWV) entlang Aorta und Arterien aus. An Bifurkation und Übergängen von kleinen Arterien zu Arteriolen kommt es zu Impedanzänderungen. An diesen Stellen wird die initiale Druckwelle reflektiert. Sowohl die Geometrie, aber auch Anzahl und Tonus der Arteriolen bestimmen das Ausmaß der Pulswellenreflexionen. Die reflektierte Welle wird mit der Pulswellengeschwindigkeit zurückgeworfen und an jedem Punkt mit der initialen Welle addiert. Erst nach Aortenklappenschluss, in der Diastole desselben Herzzyklus, erreicht die zurückgeworfene Welle die ascendierende Aorta bei jungen gesunden Personen. Dadurch erhöht sich der diastolische Blutdruck. Dies wiederum begünstigt die Koronarperfusion, welche in der Füllungsphase stattfindet.

Mittels Pulswellenanalyse kann der Punkt bestimmt werden, an dem die reflektierte Welle wieder in der ascendierenden Aorta eintrifft. Man nennt ihn Inflektionspunkt. Neben zunehmender Gefäßsteifigkeit, ist die Pulswellenreflexion dafür verantwortlich, dass SBP und PP von der Aorta hin zur Peripherie ansteigen. Die peripheren Arterien liegen näher an den Reflexionsorten als die ascendierende Aorta. Daher trifft die reflektierte Welle schon während der Systole ein und erhöht den SBP und PP vergleichsweise zu den Verhältnissen in zentralen Arterien. Dieses Phänomen wird als Pulsdruckamplifikation bezeichnet. Daraus lässt sich ableiten, dass eine Aussage zu Endorganschäden besser mithilfe der aortalen Blutdruckbestimmung (cSBP, sDBP) möglich ist [25].

Die Abbildung 2 zeigt die Pulswellenanalyse (Mobil-O-Graph® PWA) einer 30-jährigen gesunden Frau mit altersentsprechend physiologischem Gefäßalter.



**Abb. 2:** Pulswellenanalyse einer 30-jährigen Frau, bestimmt mit dem Mobil-O-Graph® PWA

### 1.4.2 Klinische Einordnung und Bedeutung hämodynamischer Parameter

Für die Einordnung der hämodynamischen Parameter, nutzt man gewisse Referenzbereiche für gesunde Erwachsene.

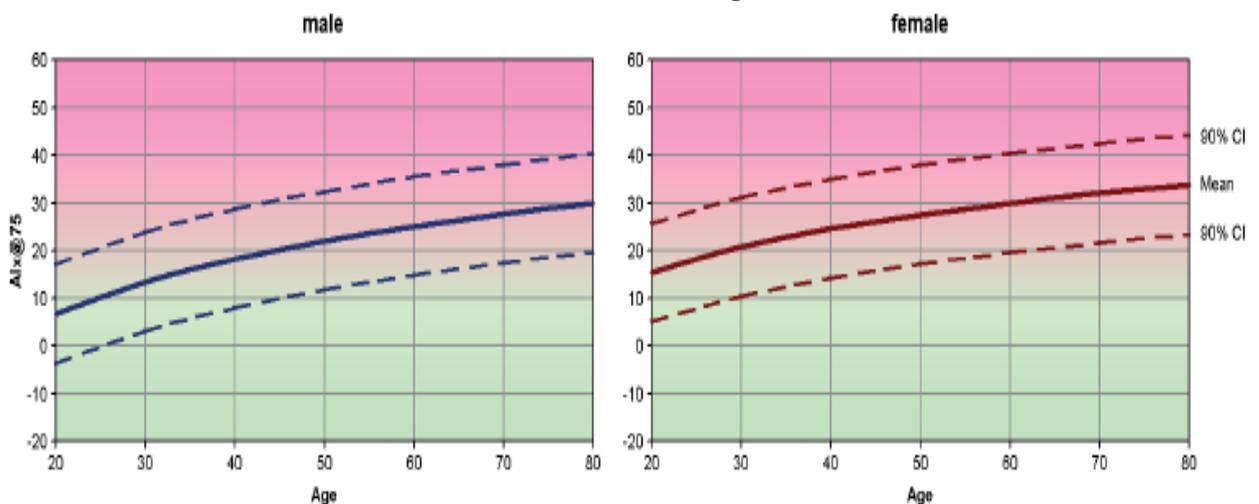
Der Ruhe-Blutdruck liegt im Optimalfall unter 120 mmHg systolisch und 80 mmHg diastolisch. Von einer Hypertonie wird bei dauerhaft systolischen Werten über 140 mmHg und/oder diastolischen Werten über 90 mmHg ausgegangen. Gegebenenfalls kann eine isolierte Erhöhung vorliegen, im Alter oft zugunsten der Systole [26].

Die Ruheherzfrequenz liegt, abhängig bspw. von Alter und Fitness, zwischen 50 und 100 bpm. Auch die PWV ist stark altersabhängig. Beträgt sie bei jungen Personen 4-5 m/sec in der ascendierenden Aorta, kann sie bei über 80-jährigen auf mehr als 12 m/sec ansteigen [27]. Ab PWV-Werten über 10 m/sec ist laut ESH/ESC von einem asymptomatischen Endorganschaden auszugehen. Oberhalb dieses Grenzbereichs konnte eine deutliche Steigerung der Wahrscheinlichkeit für tödlich verlaufende kardiovaskuläre Ereignisse nachgewiesen werden [28].

Der AIx wird meist als AIx @75 angegeben. Dabei wird der ermittelte Augmentationsindex auf eine Herzfrequenz von 75/min umgerechnet, da u.a. die HR den Wert determiniert. Da sich auch der AIx mit dem Alter verändert, bevor er ab ca. dem 55. Lebensjahr ein Plateaustadium erreicht, wurde durch die Firma I.E.M Stolberg GmbH, mithilfe einer 2000 Probanden umfassenden Studie, ein alters- und geschlechtsspezifischer Sollwertbereich ermittelt (Abb. 4) [29]. Vor allem bei Jüngeren bietet sich der AIx zur Abschätzung des Gefäßalters an, da bei diesem ein steiler Anstieg in der 2. - 5. Lebensdekade erfolgt, während die PWV erst Jahre oder Jahrzehnte später deutlich ansteigt.

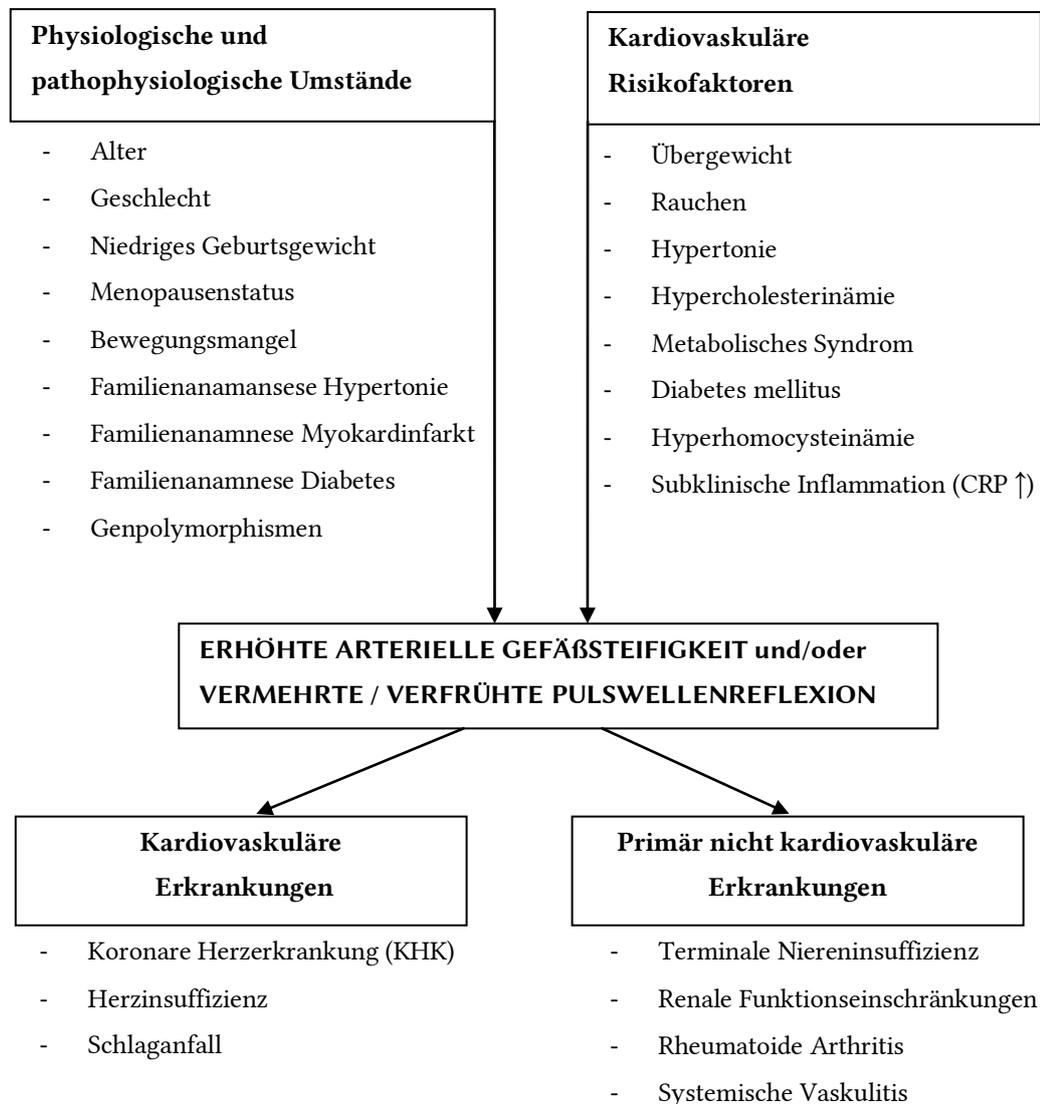
Ein klinisch stummer Endorganschaden wird zudem bei einem cPP > 60 mmHg bei älteren Menschen vermutet [28].

**Abb. 4:** Mittelwert und 90% Konfidenzintervall für den AIx@75



(mit freundlicher Genehmigung der IEM GmbH [29])

Das Ausmaß veränderter Gefäßelastizität und Pulswellenreflexion ist ein Maß für die Exposition gegenüber diversen assoziierten kardiovaskulären Risikofaktoren und (patho-)physiologischen Zuständen, im Laufe des Lebens (Abb.5).



**Abb. 5:** Risikofaktoren für hämodynamische Pathologien und potenzielle Folgeerkrankungen

AIx und PWV zeigen eine Assoziation mit der linksventrikulären Masse. Eine Abnahme dergleichen, beispielsweise unter hypertensiver Therapie, kann sich auch in einer Reduktion des cPP äußern.

Ein Zusammenhang zwischen Vorhandensein und Ausmaß der koronaren Herzkrankheit und PWV bzw. AIx zeigt sich ebenso. Die Assoziation scheint dabei unabhängig von anderen Risikofaktoren zu sein und stellt somit einen zusätzlichen Informationsgewinn dar.

Eine Assoziation mit dem Schlaganfall lässt sich insbesondere auch für erhöhte cPP-Werte feststellen [27].

### **1.4.3 Oszillometrische Messung hämodynamischer Parameter mithilfe des Mobil-O-Graph® PWA (IEM, Stolberg, Germany)**

Die genaueste Methode zur Bestimmung der arteriellen Gefäßsteifigkeit und des zentralen Blutdrucks stellt eine direkte invasive Messung dar. Da diese allerdings einen sehr hohen Aufwand und auch ein gewisses Risiko mit sich bringt, ist die Indikation im klinischen Alltag begrenzt. Mittlerweile gibt es aber eine Vielzahl nicht-invasiver Techniken, welche gut validierte Aussagen zum Zustand des arteriellen Gefäßsystems treffen können. Den bisherigen Goldstandard bildet dabei die tonometrische Methode. Sie basiert auf der Registrierung der Pulswelle an zwei voneinander entfernt gelegenen Arterien (z.B. A. carotis und A. femoralis) mittels Druckabnehmer. Durch eine spezielle Software kann die Pulswellengeschwindigkeit in Relation zur zurückgelegten Strecke berechnet werden [30].

Ein noch recht neuer Ansatz findet sich in der oszillometrischen Messung. Ein Gerät, welches auf dieser Technik basiert, ist der Mobil-O-Graph® PWA (IEM, Stolberg, Germany). Neben einer konventionellen Brachialisdruckmessung ist die Bestimmung folgender Biomarker, in einzelnen Messungen oder über einen Zeitraum von 24 Stunden, möglich:

- Zentraler Blutdruck,
- Pulswellengeschwindigkeit,
- Augmentationsindex @75,
- Schlagvolumen,
- Herzvolumen und
- Gefäßwiderstand [29].

Lediglich über eine Blutdruckmanschette erfolgt die Registrierung und Analyse der Pulswellen am Oberarm. Aus 10 gemessenen Pulswellen wird eine gefilterte, mittlere Pulswelle bestimmt und daraus die zentrale aortale Pulswelle berechnet. Von Bedeutung ist die Zeitdifferenz zwischen der initialen und reflektierten Druckwelle. Die integrierte ARC-Solver-Software (Austrian Institute of Technology, Vienna, Austria) leitet die PWV-Werte mithilfe eines Algorithmus ab. Dieser integriert das Alter, den zentralen systolischen Blutdruck und die Daten der Pulswellenanalyse in ein mathematisches Modell. Um zunächst den aortalen Druck zu erhalten werden, ebenfalls mithilfe eines proprietären Algorithmus, die Signale der oszillometrischen Blutdruckmessung am Oberarm auf Genauigkeit überprüft und eine allgemeine Übertragungsfunktion angewendet [31].

Dies ermöglicht auf eine simple Art und Weise Aussagen über Gefäßelastizität und zentralen Blutdruck zu treffen. In diversen Studien konnte eine gute Validität der Methode im direkten Vergleich mit invasiven [32] und anderen nicht-invasiven Techniken [31, 33] nachgewiesen werden.

## **1.5 Das alternde Gefäßsystem und die Rolle des Homocysteins in dessen Progression**

Grundlegende Problematik in der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen sind strukturelle Veränderungen der Gefäße im Alter. Dem von uns untersuchten Homocystein wird ein gewisses Potenzial zur Förderung beteiligter Prozesse zugeschrieben.

### **1.5.1 Pathophysiologie des alternden Gefäßsystems und Atherosklerose**

Bereits Rudolf Virchow (1821-1902) wusste: „Der Mensch ist so alt oder so jung wie seine Gefäße“. Viele Alterserscheinungen und -krankheiten stehen im Zusammenhang mit dem kardiovaskulären System. Gewisse Veränderungen des Gefäßsystems sind unumgänglich. Trotzdem verlaufen vaskuläre Alterungsprozesse sehr individuell, abhängig von exogenen und endogenen Faktoren.

Altersbedingte Unterschiede in der Betrachtung der Pulswellenanalyse können durch die Pulswellenreflexion erklärt werden. Ein höheres Alter geht mit höheren Pulswellengeschwindigkeiten einher. Dies liegt vorrangig an einer Materialermüdung des Elastins, einem elastischen Faserprotein, welches sich besonders in der Tunica media der Gefäße wiederfindet. Dieses wird brüchig und frakturiert. Schließlich wird es durch weniger elastisches Kollagen ersetzt.

Eine Beschleunigung und pathologische Steigerung dieses Prozesses stellt die Arteriosklerose, insbesondere mit ihrem wichtigsten Vertreter, der Atherosklerose, dar. Diese bezieht sich konkret auf die Intima der Gefäße und ist umgangssprachlich bekannt als „Arterienverkalkung“. Tatsächlich handelt es sich bei der Atherosklerose um eine krankhafte Einlagerung von cholesterin- und fetthaltigen Plaques in arteriellen Gefäßen. Sie ist durch eine chronische Entzündung gekennzeichnet. Vorrangig sind große Gefäße, wie die Aorta, die Karotiden und Koronararterien betroffen. Generell können aber alle Arterien des systemischen Kreislaufs atherosklerotischen Veränderungen unterliegen. Sie muss damit als generalisierte Erkrankung angesehen werden. Die Atherogenese verläuft progressiv und schreitet langsam fort. Es sind 4 Phasen zu unterscheiden:

1. Zu Beginn besteht eine Dysfunktion der Endothelzellen, welche die Gefäßinnenwand auskleiden. Physiologischerweise interagieren sie mit den zirkulierenden Blutzellen wie Leukozyten, Thrombozyten, Granulozyten und Makrophagen. Sie beeinflussen zudem die subendothelial gelegenen Gefäßmuskelzellen und damit Gefäßtonus und -struktur. Eine verminderte Bildung von Stickstoffmonoxid (NO), bei gleichzeitig vermehrter NO-Inaktivierung durch das Superoxidation ( $O_2^-$ ), führt zu einer erniedrigten NO-Verfügbarkeit. Dies äußert sich in einer Reduktion der Gefäßdilatation. Ein Übergewicht an freien Radikalen bedingt eine stärkere Oxidation des „schlechten Cholesterins“ Low-

density-Lipoprotein (LDL). Es wird im Anschluss nicht mehr von den Rezeptoren der Leber erkannt und verbleibt in höheren Konzentrationen im Blutplasma. Es wird vermehrt in die Gefäßwand aufgenommen. Durch die pathologischen Veränderungen wird eine größere Anzahl von Scavenger-Rezeptoren exprimiert, welche zusätzlich die Aufnahme und Anreicherung von LDL-Cholesterin ins Gewebe fördern.

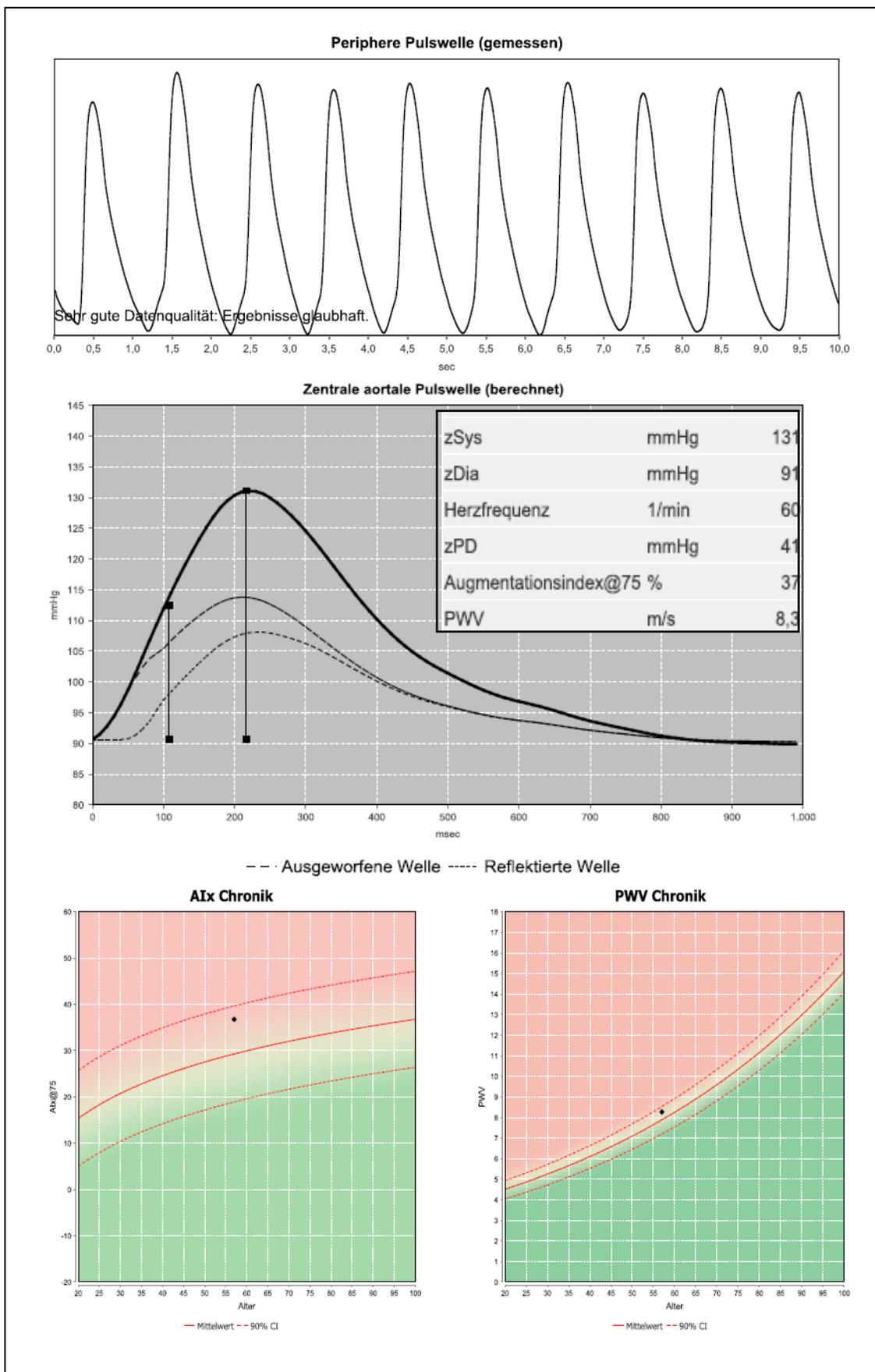
2. Die vermehrt vorhandenen freien Radikale, bei gleichzeitig gesunkenem NO führen zu einer Aktivierung verschiedener intrazellulärer Signaltransduktionsmechanismen. Diese wiederum bedingen eine Aktivierung von Transkriptionsfaktoren. Es resultiert eine hochregulierte Bildung von Adhäsionsmolekülen. Dazu gehören Selektine, welche das initiale 'Rollen' der Monozyten am Endothel entlang vermitteln, und 'Andock-Proteine' wie ICAM-1 (intracellular adhesion molecule-1) und VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-2). Monozyten können in die Intima einwandern und durch Phagozytose von Lipiden und Cholesterin entstehen Schaumzellen.
3. Diese sezernieren Wachstumsfaktoren, wie PDGF (platelet derived growth factor) und PAF (platelet adhesion factor). Durch deren chemoattraktive Wirkung auf glatte Gefäßmuskelzellen, kommt es zur Migration der glatten Muskelzellen von der Media in die (Neo-)Intima. Dort proliferieren sie weiter. Auch makroskopisch wird nun eine Verdickung der Arterienwand sichtbar und kompensatorisch kommt es zu einer Erweiterung der Gefäße („kompensatorisches Remodeling“). Klinisch werden Patienten in dieser Phase beispielsweise durch eine Angina Pectoris bei betroffenen Koronararterien auffällig.
4. War der Verlauf der Atherosklerose bisher weitestgehend stabil, kann es im Verlauf auch zur Destabilisierung einer atherotischen Plaque kommen. Nicht allein deren Größe oder der Grad der Lumeneinengung bestimmt die Stabilität, sondern vorrangig ihre Zusammensetzung und Morphologie. Eine stabile Plaque liegt vor, wenn fibröse Komponenten überwiegen und eine robuste, versiegelnde Kappe (fibrous cap) vorhanden ist. Hingegen sorgen ein hoher Gehalt an (oxidiertem) LDL und eine dünne fibrotische Versiegelung für eine zunehmende Instabilität der Plaque. Das Risiko für eine Plaqueerosion und -ruptur steigt drastisch. Klinisch resultiert daraus etwa ein akutes Koronarsyndrom [34].

Resultat dieser Prozesse ist die nicht-lineare Zunahme von Gefäßsteifigkeit und zentraler PWV auf mehr als das Doppelte im hohen Alter. Die reflektierte Pulswelle erreicht die ascendierende Aorta bereits vor Aortenklappenschluss, in der Systole. Dies erhöht den systolischen Blutdruck und die kardiale Nachlast. Gleichzeitig ist der diastolische Blutdruck niedriger. Dies erklärt den Umstand, dass im Alter vor allem eine isolierte systolische Hypertonie auftritt. Die verfrühte und vermehrte Pulswellenreflexion zeigt sich in einem höheren AIx [25].

Aus der Kausalkette des erhöhten SBP und der damit einhergehenden Nachlasterrhöhung ergibt sich im Verlauf eine Linksherzhypertrophie. Dies führt zu Funktionseinschränkungen und einem erhöhten Sauerstoffbedarf in der betroffenen myokardialen Muskulatur. Die Kontraktion und Relaxation verlaufen langsamer, die Dauer der Systole ist verlängert und daraus resultierend ergibt sich eine noch größere systolische Blutdruckaugmentation durch die reflektierte Welle. Dem entgegen kommt es zu Perfusionsengpässen des Myokards, da die Füllung der Koronarien mit Blut durch die limitierte Zeit der Diastole stark eingeschränkt ist. Eine hinzukommende Koronare Herzkrankheit (KHK) durch atherosklerotische Veränderungen, begünstigt zusätzlich die Entstehung einer zunächst diastolischen und später auch systolischen Herzinsuffizienz.

Die eingeschränkte Dämpfungsfunktion und Elastizität der Arterien im Alter führen zu einem erhöhten Pulsdruck. Die verstärkten Pulsationen setzen sich bis in Mikrozirkulation fort. Organe, die einem hohen Ruhefluss und gleichzeitig geringem Widerstand unterliegen, sind schlecht gegen vermehrte Pulsationen geschützt. Dazu gehören beispielsweise das Gehirn und die Nieren. Es besteht das erhöhte Risiko einer Plaqueruptur in wandveränderten Gefäßen, was die Assoziation mit Erkrankungen wie dem cerebrovaskulären Insult erklärt [27].

Die Abbildung 6 zeigt die Pulswellenanalyse (Mobil-O-Graph® PWA) einer 57-jährigen gesunden Frau mit altersentsprechend physiologischem Gefäßalter. PWV und AIx@75 sowie die zentralen Blutdruckparameter geben höhere Werte im Vergleich zur 30-jährigen Frau (Abb. 2) wieder. Im weiteren Verlauf wäre irgendwann mit dem Abfall des cDBP und einem weiteren Anstieg des cSBP zu rechnen.



**Abb. 6:** Pulswellenanalyse einer 57-jährigen Frau, bestimmt mit dem Mobil-O-Graph® PWA

### 1.5.2 Auswirkungen des Homocysteins auf den Prozess der Gefäßalterung

Bereits 1969 beschrieb McCully erstmals vaskulär schädigende Mechanismen des Homocysteins [35]. Es fungiert gewissermaßen als Bindeglied zwischen einer suboptimalen Vitamin B-Versorgung und Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems.

Es steht im Verdacht eine vorzeitige Alterung der Gefäße zu begünstigen. Das vaskulär schädigende Potenzial basiert auf verschiedenen Theorien, welche Bestandteil zahlreicher Untersuchungen der letzten Jahre waren. Im Vordergrund stehen Veränderungen am Gefäßendothel sowie an den glatten Muskelzellen der Tunica media. Als Resultat finden sich arterielle Strukturveränderungen und Dysfunktionen im subklinischen Bereich, bis hin zur manifesten Atherosklerose (Pathophysiologie siehe Kapitel 1.4.2).

Am Gefäßendothel stehen vier pathophysiologische Mechanismen im Vordergrund:

- Homocysteininduzierter oxidativer Stress, welcher die Bioverfügbarkeit von NO, einem potenten Vasodilatator, beeinträchtigt und zum Zelluntergang führen kann
- Stressreaktionen am endoplasmatischen Retikulum mit möglicher Apoptose der Endothelzellen
- Chronische Entzündungsreaktionen, welche durch Mediatoren wie MCP-1, IL-1 $\beta$ , IL-6 und MMP-2 vermittelt werden
- Prothrombotische Effekte mit gesteigerter Plättchenaktivierung und Koagulation sowie verminderter Fibrinolyse [36]

In der Media wirkt sich die Migration und Proliferation glatter Muskelzellen durch DNA-Methylierung negativ auf die Gefäßelastizität aus. Hinzu kommt eine gesteigerte Kollagensynthese bei gleichzeitiger Degeneration der elastischen Fasern [37]. Auch an dieser Stelle tragen zusätzlich inflammatorische Vorgänge entscheidend zur Schädigung bei. Über den NMDAR-ROS-ERK1/2/p38-NF $\kappa$ B-Signalweg konnte beispielsweise die Expression von CRP in vaskulären glatten Muskelzellen in vitro und in vivo induziert werden [38].

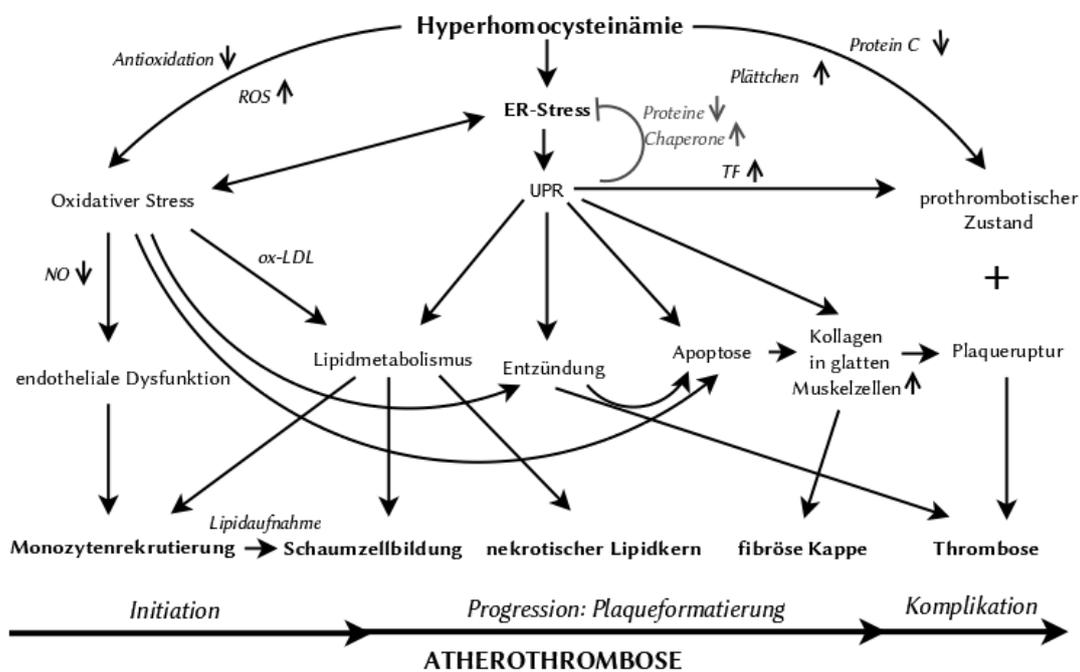
Homocystein-induzierter ER-Stress kann zudem eine wichtige Rolle bei der Initiierung und Beschleunigung der Atherosklerose spielen, indem Gene, die mit der Biosynthese und Aufnahme von Lipiden assoziiert sind, hochreguliert werden.

Die Rekrutierung von Monozyten, die Ablagerung von Lipiden und die Bildung von Schaumzellen tragen zur Initiierung einer frühen Atherosklerose bei.

Die anschließende Bildung nekrotischer Lipidkerne und Faserkappen sind die Merkmale fortgeschrittener Läsionen. Die Apoptose glatter Muskelzellen und Makrophagen, welche dort ansässig sind, spiegeln wahrscheinlich einen der Mechanismen des Risses einer Plaque wider. Weiterhin können Homocystein-induzierte prothrombotische Zustände die Thrombusbildung

auf der gerissenen Plaque fördern und zur akuten klinischen Manifestationen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen führen.

Andererseits besteht die Vermutung, dass eine milde Hyperhomocysteinämie und kurzzeitige ER-Stressreaktion durch Inhibition der Proteinsynthese und Steigerung der ER-Chaperon-Produktion, eine gewisse protektive Rolle bezüglich einer weiteren Atheroskleroseprogression einnehmen könnte [23]. Zusätzlich schafft die induzierte Proliferation glatter Muskelzellen plaquestabilisierende Eigenschaften. Bei einer Senkung der Homocysteinspiegel kann es zu unerwünschten Wirkungen an größeren, lipidreichen, nekrotischen Läsionen kommen, indem es zur direkten Verdünnung einer marginalisierten Faserkappe führt [39].



*NO*: Stickstoffmonoxid – lokal-chemischer Vasodilatator

*ox-LDL*: oxidiertes low-density Lipoprotein – Aufnahme und Speicherung in den Arterienwänden von Makrophagen ungehemmt und konzentrationsunabhängig

*Plättchen*: Thrombozyten – Thrombusbildung durch fibrinvermittelte Bindung mit anderen Thrombozyten; entscheidend für die Blutgerinnung

*Protein C*: Protease, die nach Aktivierung (mit Cofaktor Protein S) durch Proteolyse die Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa inaktiviert und die Fibrinolyse induziert

*ROS*: Reaktive Sauerstoffspezies – schädliche Formen des Sauerstoffs

*TF*: Tissue factor / Faktor III – integrales Membranglykoprotein, welches für die Einleitung der Blutgerinnung unverzichtbar ist (Gerinnungsfaktor)

*UPR*: Unfolded Protein Response – Komplexe Reaktion von Zellen auf Stress, welcher durch Ansammlung von Proteinen mit fehlerhafter Faltung im ER entsteht

**Abb. 7:** Pathophysiologischer Einfluss des Homocysteins auf Gefäße  
(in Anlehnung an [23])

## 2. Zielstellung

Seit geraumer Zeit sieht man in der Optimierung des B-Vitamin-Status eine Chance zur Prävention vorzeitiger Gefäßalterung und damit verbundenen kardiovaskulären Erkrankungen. Die metabolischen Vorgänge, u.a. die Zusammenhänge mit Homocystein und dessen Auswirkungen, sind weitestgehend bekannt. Trotzdem erweist es sich als schwierig allgemeingültige Empfehlungen zur bestmöglichen Applikationsform, -dauer und -zeit zu treffen. Spezifische körperliche Voraussetzungen und Anforderungsprofile bedürfen einer individuellen, auf den Einzelnen abgestimmten Nährstoffversorgung.

Der Markt an Nahrungsergänzungsmitteln wächst unaufhörlich und bietet längst eine unüberschaubare Anzahl an Produkten.

Es braucht klinische Studien, welche die Wirkung der einzelnen Präparate bezüglich konkreter Fragestellungen und für verschiedene Personengruppen untersuchen. Nur so bietet sich dem Verbraucher die Chance eine auf seine Bedürfnisse angepasste Nahrungsergänzung zu finden.

Aus diesem Grund entschieden wir uns für die Durchführung der hier thematisierten Studie. Ziel der Arbeit ist es, erstmals die klinische Wirksamkeit des fluiden Multivitaminkonzentrats „Myeniola“ für gesunde Erwachsene nach 12-wöchiger Substitution zu überprüfen. Es soll sich zeigen, ob das Präparat geeignet ist Veränderungen der Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäurewerte im Plasma zu bewirken. Durch Bestimmung des abhängigen Homocysteinspiegels und verschiedener hämodynamischer Parameter, sollen zusätzliche Aussagen zur Effektivität der Supplementierung und Funktionsweise im Organismus möglich werden. Damit soll die Studie gleichzeitig weitere Hinweise auf eine vorrangig primärpräventive Nutzbarkeit von Vitamin-B-Ergänzungen in Bezug auf kardiovaskuläre Pathologien liefern.

### 3. Material und Methodik

#### 3.1 Studienaufbau

Im Rahmen der randomisiert, placebokontrollierten Interventionsstudie „Einfluss der 12-wöchigen Einnahme eines Vitalstoffkonzentrats auf Lebensqualität und Stimmung sowie gesundheitsrelevante Vital- und Blutparameter und das Immunsystem“ wurden 83 Probanden für die Beantwortung verschiedener Fragestellungen zur Wirkung eines Nahrungsergänzungsmittels ausgewählt. Davon schlossen 75 Teilnehmer den 3-monatigen Interventionszeitraum sowie die Eingangs- und Abschlussuntersuchung erfolgreich ab. Im Nachhinein musste für diese Arbeit lediglich ein weiterer Proband aus der statistischen Betrachtung ausgeschlossen werden, da nach Auswertung verschiedener Blut- und Vitalwerte eine Pathologie im Bereich der Vitaminaufnahme und/oder -verwertung nicht ausgeschlossen werden konnte.

Die folgend beschriebene Methodik soll sich dabei vorrangig auf die spezifische Thematik dieser Ausarbeitung beschränken.

#### 3.2 Vitalstoffkonzentrat

Basis der Untersuchungen bildete das fluide Vitalstoffkonzentrat „Myeniola“ (Myeniola GmbH, Mettmann), dessen Einnahme von den Probanden der Verumgruppe am frühen Morgen, pur oder gelöst in einem Glas Wasser, erfolgen sollte. Das Präparat enthält nach Herstellerangaben 97 natürliche Zutaten, angereichert mit verschiedenen Vitalstoffen:

*Fruchtsaftkonzentrat aus Apfel, Traube, Orange, Sauerkirsche, Granatapfel, Aronia, Aprikose, Papaya, Ananas, Erdbeere, Holunder, Heidelbeere, Hagebutte, Cranberry, Maracuja, Schwarze Johannisbeere, Agavendicksaft, Birnendicksaft, Baobabpulver (3 %), Inulin, Ascorbinsäure (Vitamin C), Rosmarin Extrakt, Traubenschalenextrakt, Matcha Tee, grüner Kaffeeextrakt, Brokkolikonzentrat, grüner Tee Extrakt, Zwiebelextrakt, Apfelextrakt, Acerolaextrakt, Camu Camukonzentrat, Quercetin, Tomatenkonzentrat, Acaikonzentrat, Curcumakonzentrat, Knoblauchkonzentrat, Basilikumkonzentrat, Oreganokonzentrat, Zimtkonzentrat, Holunderkonzentrat, Karottenkonzentrat, Mangosteenkonzentrat, Süßkirschenkonzentrat, Brombeerkonzentrat, Spinatkonzentrat, Grünkohlkonzentrat, Rosenkohlkonzentrat, Kräuterextrakt aus: Holunder, Rosmarin, Eberraute, Leberkraut, Kardobenediktenkraut, Tausendgüldenkraut, Kerbel, Wegwarte, Ysop, Nelkenwurz, Krauseminze, Zitronenmelisse, Schafgarbe, Thymian, Bitterklee, Oregano, Petersilienkraut, Kumin, Lavendel, Koriander, Pomeranzenschalen, Macisblüten, Nelken,*

Loorbeerblätter, Anis, Kümmel, Kamillenblüten römisch, Galgantwurzel, Fenchel, Ingwerwurzel, Pfefferminze, Estragon, Dillkraut, Majoran, Liebstöckel, Bohnenkraut, Basilikum, Himbeerblätter, Betacarotin, Coenzym Q10, Konservierungsmittel Kaliumsorbat, Niacin, Tocopherolacetat (Vitamin E), Calciumpantothenat, Pyridoxinhydrochlorid (Vitamin B6), Riboflavin (Vitamin B2), Cholecalciferol (Vitamin D3), Thiaminhydrochlorid (Vitamin B1), Pteroylmonoglutaminsäure (Folsäure), Biotin, Natriumselenat, Cyanocobalamin (Vitamin B12).

Eine Tagesportion entspricht 10ml, welche durch den beiliegenden Messbecher genau dosiert werden konnten. Tabelle 4 zeigt deren entsprechende Wirkstoffkonzentration, nach Herstellerangaben.

**Tab. 4:** Wirkstoffe des Präparates „Myeniola“

	<b>Pro Portion (10ml)</b>	<b>% - NRV*</b>
<b>Vitamin C</b>	120 mg	150%
<b>Vitamin E</b>	12 mg	100%
<b>Vitamin B<sub>6</sub></b>	4,2 mg	300%
<b>Vitamin B<sub>2</sub></b>	1,375 mg	100%
<b>Vitamin B<sub>1</sub></b>	1,125 mg	100%
<b>Folsäure</b>	600 µg	300%
<b>Vitamin B<sub>12</sub></b>	7,5 µg	300%
<b>Vitamin D<sub>3</sub></b>	10 µg	200%
<b>Biotin</b>	50 µg	100%
<b>Niacin</b>	16 mg	100%
<b>Vitamin B<sub>5</sub></b>	6 mg	100%
<b>Selen</b>	11µg	20%
<b>Q10</b>	30 mg	
<b>Betacarotin</b>	4000 µg	

\* % der Nährstoffbezugswerte (NRV) gemäß Lebensmittelinformations-Verordnung

Vor Beginn der Studie ließen wir uns durch die Dr. Förster AG bestätigen, dass das Produkt die Auflagen für Nahrungsergänzungsmittel bezüglich Aufmachung und Dosierung erfüllt.

Die Teilnehmer der Placebogruppe konsumierten ebenfalls täglich 10 ml eines in Farbe und Verpackung gleich aussehenden und geschmacklich ähnlichen Obstsaftgemisches aus Apfel, Traube, Orange, Sauerkirsche, Granatapfel, Aronia, Aprikose, Papaya, Ananas, Erdbeere, Holunder, Heidelbeere, Hagebutte, Cranberry, Maracuja, Schwarze Johannisbeere, Agavendicksaft und Birnendicksaft mit Kaliumsorbat als natürlichen Konservierungsstoff.

### **3.3 Ethikkommissionsantrag**

Für die Durchführung der unter 3.1 genannten Studie war die Zustimmung der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg notwendig. Diese wurde unter der Bearbeitungsnummer 2017-13 erteilt.

### **3.4 Rekrutierung und Auswahl der Probanden**

Zur Rekrutierung der Probanden wurde ein Artikel auf der Internetseite des Instituts für Leistungsdiagnostik und Gesundheitsförderung e.V. der Universität Halle veröffentlicht. Zusätzlich erfolgte die Information potenzieller Kandidaten mithilfe eines Newsletters durch die „eismann Tiefkühl-Heimservice GmbH“ per E-Mail (siehe Anlage 9.2). Interessierte Personen konnten sich direkt in einem angehängten Kontaktformular für die Teilnahme bewerben. Gleichzeitig erfolgte die Angabe von Informationen über Alter, Geschlecht, Beruf, Rauchverhalten, Chronischen Erkrankungen und Einnahme von Medikamenten und/oder Nahrungsergänzungsmitteln, was eine erste Selektion der Interessenten ermöglichte.

Die Kandidaten wurden daraufhin telefonisch kontaktiert, mithilfe eines strukturierten Interview-Leitfadens die Bereitschaft einer Teilnahme noch einmal erfragt und die oben genannten Angaben überprüft. Waren bis dahin keine Einwände erkennbar, wurden die potentiellen Probanden über den weiteren Ablauf aufgeklärt, gegebenenfalls Fragen beantwortet und ein Termin für die Erstuntersuchung vereinbart.

Sie erhielten Informationen über:

- die freiwillige Teilnahme und die Möglichkeit jederzeit die Studie zu beenden
- die Kostenfreiheit der Teilnahme
- die anonymisierte wissenschaftliche Auswertung der erhobenen Daten
- die nicht beeinflussbare Aufteilung der Probanden in zwei Gruppen (Verum und Placebo)
- das Testprodukt und Einnahmehinweise
- die körperliche Eingangs- und Abschlussuntersuchung sowie die damit verbundenen Nüchtern-Blutentnahmen
- das Ausfüllen eines Krankheitstagebuchs während der Einnahmezeit
- das Ausfüllen von zwei Fragebögen jeweils zu Eingangs- und Abschlussuntersuchung
- das Ausfüllen eines 3-tägigen Ernährungstagebuchs direkt vor der Eingangs- und nach der Abschlussuntersuchung

Folgende Informationen wurden mithilfe einer standardisierten Tabelle für jeden Probanden erfasst:

- Name, Vorname
- Geburtsdatum, Alter
- Geschlecht
- Straße, Postleitzahl, Wohnort
- E-Mail-Adresse
- Telefonnummer
- Medikamente/Nahrungsergänzungsmittel
- Größe
- Gewicht
- Rauchverhalten
- Geplanter Urlaub im Studienzeitraum

Anschließend wurde den Teilnehmern per E-Mail (siehe Anlage 9.3) eine Terminerinnerung, Wegbeschreibung und im Anhang eine Probandeninformation mit Einverständniserklärung (siehe Anlage 9.4) sowie das auszufüllende Ernährungstagebuch (siehe Anlage 9.5) übermittelt.

### **3.5 Ausschlusskriterien**

Die Teilnahme war abhängig von den folgenden Ausschlusskriterien:

- Alter < 30 und > 60 Jahre
- Bekannte akute oder chronische Erkrankungen
- Geplante Schlankheitskuren während des Einnahmezeitraums
- Geplanter Urlaub während des Einnahmezeitraums
- Übermäßiger Alkohol-/Drogenkonsum
- Regelmäßiger Konsum von > 5 Zigaretten pro Tag
- Homocysteinspiegel > 50µmol/l in der ersten Blutentnahme
- Einnahme anderer Nahrungsergänzungsmittel 4 Wochen vor und während des Interventionszeitraums
- Verweigerung der schriftlichen Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie mit anonymisierter wissenschaftlicher Auswertung der erhobenen Daten.

*Zu 1.* Aufgrund der Universitätsstandorte Halle und Kassel sind Erwachsene unter 30 Jahren überdurchschnittlich häufig Studierende. Um einen aussagekräftigen Querschnitt der Normalbevölkerung im Teilnehmerfeld zu haben, wurde diese Altersgruppe ausgeschlossen. Da die Parameter der Gefäßelastizität altersabhängig sind, wurden weiterhin die über 60-jährigen nicht in die Betrachtung einbezogen.

*Zu 2.* Mit Erkrankungen sind Störungen der Gesundheit gemeint, die für den Probanden physisch und/oder psychisch zu subjektiven Einschränkungen führen und/oder einer intensiven medikamentösen Behandlung bedürfen. Sowohl die Erkrankung selbst, als auch bestimmte Medikamente könnten sich auf die ermittelten Vital- und Blutparameter auswirken. In Einzelfällen wurden Medikamenteneinnahmen (z.B. Kontrazeptiva) individuell geprüft und toleriert, wenn der Proband angab sich gesund zu fühlen und keine Auswirkungen auf die Ergebnisse zu erwarten waren.

*Zu 3.* Eine Änderung des Essverhaltens in Form einer Diät kann ein Nährstoffdefizit bedeuten, welches sich auf die Laborwerte auswirken kann.

*Zu 4.* Um die Erreichbarkeit und das Fortsetzen ihres gewohnten Lebensstils während des Interventionszeitraums sicherzustellen, wurden die Probanden gebeten während der Einnahmezeit nicht zu verreisen. Zudem hätten sich Urlaube in südlicheren Gebieten bspw. auf den gemessenen Vitamin D-Wert auswirken können.

*Zu 5.* Um die Compliance der Teilnehmer zu gewähren und Wechselwirkungen mit dem Präparat auszuschließen, wurden Kandidaten mit anamnestisch ermitteltem übermäßigem Alkohol- oder Drogenkonsum ausgeschlossen.

*Zu 6.* Da sich Nikotinabusus nachweislich auf Homocysteinspiegel und Parameter der Gefäßelastizität auswirken kann, wurden Probanden mit langjährigem, starkem Nikotinkonsum nicht für die Studie ausgewählt.

*Zu 7.* Wurde bei der ersten Blutentnahme ein auffällig hoher Homocysteinwert  $> 50\mu\text{mol/l}$  festgestellt, wurde den Probanden umgehend eine medizinische Weiterbetreuung empfohlen, um mögliche Ursachen wie beispielsweise eine MTHFR-Mutation oder einen Intrinsic Factor - Mangel auszuschließen.

*Zu 8.* Um Verfälschungen der Ergebnisse durch andere Vitalstoffpräparate zu vermeiden, durften die Teilnehmer vier Wochen vor und während der Einnahmezeit keine anderen Nahrungsergänzungsmittel zu sich nehmen.

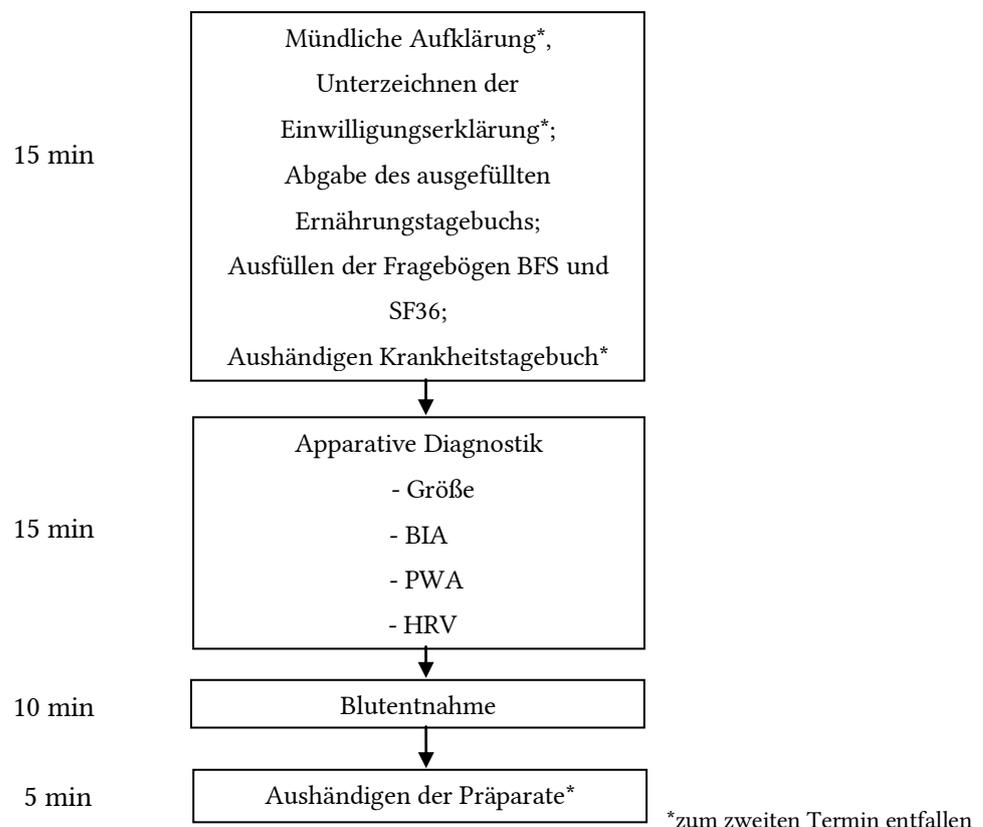
*Zu 9.* Durch die Ethikkommission wird eine schriftliche Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie und der Datenverwendung zu wissenschaftlichen Zwecken gefordert.

### 3.6 Verteilung auf Verum- und Placebogruppe

Durch das Auswahlverfahren konnten 83 Probanden selektiert werden. Zur Verteilung auf die Verum- und Placebogruppe wurde eine Randomisierung, durch nicht an der Studie beteiligte Wissenschaftler, durchgeführt. Persönliche Präferenzen der Teilnehmer für eine Gruppe wurden dabei nicht berücksichtigt. Die Studie basierte auf einem doppelblinden Konzept, erst nach Abschluss der Untersuchungen bestand für die Teilnehmer die Möglichkeit ihre Gruppenzugehörigkeit zu erfragen. Letztlich konnten die Daten von 37 Probanden der Verumgruppe und ebenso von 37 Personen der Placebogruppe in die statistische Auswertung dieser Arbeit einfließen.

### 3.7 Studienablauf

Insgesamt mussten sich die Probanden an 2 Tagen (Eingangs- und Abschlussuntersuchung) am jeweiligen Untersuchungsstandort einfinden. Zur Auswahl standen dafür die kardiologische Gemeinschaftspraxis Dr. Frank Jäger in Kassel sowie das Institut für Sportwissenschaft in Halle/Saale. Pro Termin und Person musste mit einem Zeitaufwand von ca. 45 Minuten gerechnet werden. Diese gliederten sich wie folgt (Abb. 7):



**Abb. 7:** Ablauf der Eingangs- und Abschlussuntersuchung

Um sicherzugehen, dass der Teilnehmer Ziel und Ablauf der Studie sowie alle damit verbundenen Risiken, verstanden hatte, wurde jeder einzelne noch einmal separat mündlich aufgeklärt. Durchgeführt wurde dies durch den Studienleiter. Lagen keine Einwände vor und war der Proband weiterhin gewillt teilzunehmen, wurde von ihm die Einwilligungserklärung unterzeichnet.

### **3.7.1 Ernährungstagebuch**

Bereits im Vorfeld erhielt jeder Proband ein Ernährungstagebuch (siehe Anlage 9.5), welches jeweils über einen Zeitraum von 3 Tagen vor beiden Untersuchungen ausgefüllt werden sollte. Dadurch konnte eine umfangreiche Nährstoffanalyse erfolgen, welche sicherstellen sollte, dass keine eklatanten Ernährungsumstellungen während des Interventionszeitraums erfolgten. Dies hätte gegebenenfalls einen Ausschluss einzelner Teilnehmer nach sich ziehen müssen, um eine Verfälschung der Ergebnisse auszuschließen. Mittels der Computersoftware PRODI 6.0 Basis der Firma Nutri-Science wurden die erhobenen Daten ausgewertet.

### **3.7.2 BFS, SF-36 und Krankheitstagebuch**

Die Befindlichkeitskala (BFS) sowie der Short Form Gesundheitsfragebogen (SF-36) wurden zur Ermittlung von Lebensqualität und Stimmung der Probanden jeweils zu Eingangs- und Abschlussuntersuchung ausgefüllt. Ebenso wie das Krankheitstagebuch, welches über den kompletten Interventionszeitraum zur Erfassung von gesundheitlichen Beschwerden diente, wurden sie vorrangig zur Beantwortung anderer Fragestellungen genutzt. Daher soll ihr Inhalt in dieser Arbeit nicht genauer aufgeführt werden.

### **3.7.3 Apparative Diagnostik**

Durch eine grundlegende Anamnese und die apparative Diagnostik konnte eine detaillierte Gruppencharakteristik erstellt werden. Die Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA), mithilfe der Körperanalysenwaage Tanita BC-545, stützte die durchgeführte Nährstoffanalyse, indem sie Veränderungen der Körperzusammensetzung während des Interventionszeitraums von einzelnen Probanden oder dem gesamten Kollektiv aufzeigen sollte. Größe und Gewicht wurden im aufrechten Stand, ohne Schuhe und in leichter Tageskleidung ermittelt.

Im Rahmen der Untersuchung wurde eine Herzratenvariabilitäts(HRV)-Messung durchgeführt, welche nicht in die Betrachtung dieser Ausarbeitung fiel.

Umso größere Beachtung wurde der Pulswellenanalyse geschenkt. Bestimmt wurden dabei verschiedene Parameter der Hämodynamik und Gefäßsteifigkeit. Sowohl in der Eingangs-, als auch in der Abschlussuntersuchung wurde je eine oszillometrische Messung mithilfe des ‚Mobil-O-Graph® 24h PWA Monitor‘ (IEM; Stolberg, Germany) unternommen. Für die Aufbereitung der Daten wurde die Hypertonie Management Software - HMS CS Client-Server als Auswerteeinheit verwendet. Jede Messung wurde standardisiert in Ruhe und liegender Position vom selben Untersucher durchgeführt. Die Blutdruckmanschette konnte individuell an den Oberarmumfang angepasst werden. Wir achteten bewusst auf eine ruhige Messumgebung. Alle ermittelten Daten wurden in einem standardisierten Messdatenblatt festgehalten (siehe Anlage 9.7). Die Probanden erhielten nach Abschluss der Studie eine komplette Auswertung ihrer Ergebnisse mit Erklärungen zu den erhobenen Messparametern und Blutanalysen (siehe Anlage 9.8).

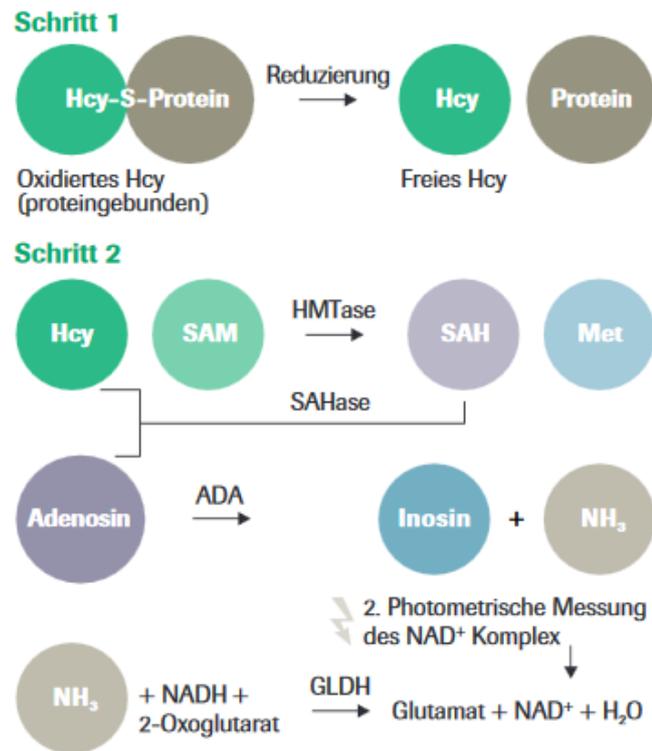
#### **3.7.4 Blutentnahme und -analyse**

An beiden Untersuchungsterminen mussten sich die Probanden jeweils einer venösen Blutentnahme unterziehen. Durchgeführt wurden diese mit ‚SAFETY Multifly Kanülen 21G 200mm‘ der Firma Sarstedt AG & Co.. Für die Bestimmung des Homocysteins und der Vitamine D, B<sub>12</sub> und Folsäure wurden zwei Lithium-Heparin-Gel-Monovetten 90 x 13mm, 4,9ml pro Teilnehmer genutzt; für die Bestimmung von HbA1c eine EDTA-Monovette 65 x 13mm, 2,6ml der Firma Sarstedt AG & Co. HbA1c und Vitamin D spielten in dieser Arbeit keine Rolle. Die Blutentnahmen erfolgten in der Zeit zwischen 7.00 Uhr und 11.30 Uhr.

Die Probanden wurden angehalten eine 8-stündige Nüchternheit vor ihrem Termin einzuhalten. Erlaubt war lediglich das Trinken von Wasser und in Ausnahmefällen die Einnahme wichtiger Medikamente, welche nicht die in dieser Studie untersuchten Parameter beeinflussen. Die beiden Lithium-Heparin-Monovetten wurden direkt nach Entnahme zentrifugiert und auf Eis gelagert. Innerhalb von 6 Stunden (Halle) bzw. 32 Stunden (Kassel) wurden die Proben ins Zentrallabor des Uniklinikums Halle gebracht und dort analysiert.

Für die Bestimmung des Homocysteins wurde als Testverfahren das Enzyme-Cycling (Abb. 8) mithilfe des Analysesystems ‚Roche cobas c 502‘ eingesetzt. Im ersten Schritt wird dabei proteingebundenes, oxidiertes Homocystein zu freiem Homocystein reduziert. Mithilfe der katalytisch wirkenden Hcy-S-Methyltransferase und dem Co-Substrat S-Adenosylmethionin (SAM) bildet das Homocystein anschließend Methionin (Met) und S-Adenosylhomocystein (SAH). Letzteres wird in gekoppelten enzymatischen Reaktionen gemessen, indem es durch die SAH-Hydrolase zu Adenosin (Ado) und Homocystein hydrolysiert wird. Das gebildete Homocystein wird wieder in die Umwandlungsreaktion einbezogen. Dadurch entsteht ein

Reaktionszyklus, der das Nachweissignal amplifiziert. Das gebildete Adenosin wird zu Inosin und Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) hydrolysiert. Dieses reagiert unter der als Katalysator fungierenden Glutamatdehydrogenase (GLDH) bei gleichzeitiger Umwandlung von reduziertem Nicotinamadenindinukleotid (NADH) zu oxidiertem  $\text{NAD}^+$ . Die Photometrische Messung basiert darauf, dass die Homocysteinkonzentration in der Probe indirekt proportional zu der Menge NADH ist, die zu  $\text{NAD}^+$  ( $\Delta A_{340\text{nm}}$ ) umgewandelt wird [40].

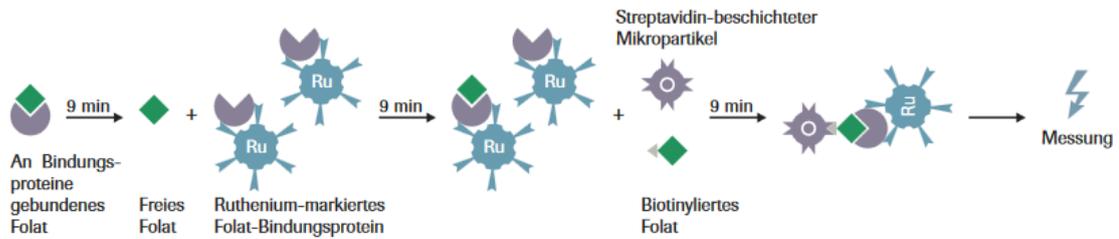


**Abb. 8:** Enzyme-Cycling zur Bestimmung der Homocysteinkonzentration (mit freundlicher Genehmigung durch Roche Diagnostics International Ltd. [40])

Folsäure und Vitamin B12 konnten durch das ‚Roche cobas e 602‘-System mittels Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) quantitativ ermittelt werden. Bei der Folsäure basiert der Test auf dem Wettbewerbsprinzip (Abb. 9). Dabei werden zunächst 25  $\mu\text{l}$  der Probe mit den Folat-Vorbehandlungsreagenzien 1 und 2 inkubiert, um gebundenes Folat von den endogenen Folat-Bindungsproteinen freizusetzen. Durch erneute Inkubation der vorbehandelten Probe mit Ruthenium-markiertem Folat-Bindungsprotein entsteht ein Folatkomplex, dessen Menge von der Analytkonzentration in der Probe abhängig ist. Im Anschluss werden Streptavidin-beschichtete Mikropartikel und mit Biotin markiertes Folat hinzugefügt. Die ungebundenen Stellen der Ruthenium-markierten Folat-Bindungsproteine werden besetzt und somit entsteht ein Ruthenium-markierter Folat-Bindungsprotein-Folat-Biotin-Komplex. Dieser wird über die Interaktion von Biotin und Streptavidin an die

Festphase gebunden. Zur Messung wird die Reaktionsmischung in die Messzelle aspiriert. Dort werden die Mikropartikel magnetisch auf der Elektrodenoberfläche festgehalten. Im Anschluss werden die ungebundenen Substanzen entfernt und das Anlegen einer Spannung an die Elektrode induziert die Chemilumineszenz-Emission, welche von einer Photodiode gemessen werden kann [41].

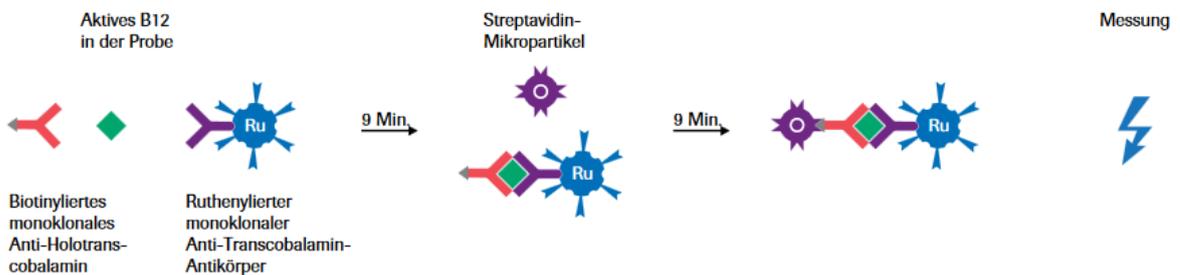
**Testprinzip: Wettbewerbsprinzip**



**Abb. 9:** ECLIA zur Bestimmung der Folsäurekonzentration (mit freundlicher Genehmigung durch Roche Diagnostics International Ltd. [41])

Zur Bestimmung des Vitamin B<sub>12</sub> macht man sich das Sandwich-Prinzip (Abb. 10) zu nutze. Dabei reagieren 18 µl oder 30 µl der Probe, ein biotinylierter monoklonaler Antikörper sowie ein mit Ruthenium-Komplex markierter monoklonaler Transcobalamin-Antikörper und bilden einen Sandwichkomplex. Auch hier erfolgt im Anschluss die Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln und der Komplex wird über die Biotin-Streptavidin-Interaktion an die feste Phase gebunden. Die Messung erfolgt im Anschluss in gleicher Weise wie bei der Folsäure [42].

**Testverfahren: Sandwich-Prinzip**



**Abb. 10:** ECLIA zur Bestimmung der Vitamin B<sub>12</sub> - Konzentration (mit freundlicher Genehmigung durch Roche Diagnostics International Ltd. [42])

### **3.8 Statistische Auswertung**

Die erhobenen Merkmale aller Probanden sowie die gemessenen Laborwerte wurden in einer Tabelle des Programms Microsoft Office Excel 2007 gespeichert.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte anschließend mit dem Statistikprogramm SPSS Version 24.0 (2016) für Windows. Zum deskriptiven Vergleich der statistischen Kennwerte wurden arithmetische Mittelwerte, Standardabweichungen und Varianzen berechnet. Die Berechnung von Korrelationen erfolgte gruppenunabhängig bei ausschließlich metrischen Daten nach Pearson und bei ordinalskalierten Daten nach Spearman. Zusätzlich wurden verschiedene multivariate Regressionsmodelle errechnet. Die grafische Darstellung der Abhängigkeiten zwischen zwei oder mehreren Parametern, inklusive Einzeichnen der linearen Regressiongeraden erfolgten ebenfalls mit SPSS.

Im Vorfeld der Mittelwertsprüfung wurden alle Daten mittels Histogrammanalyse und Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf Normalverteilung geprüft. Waren die Variablen normalverteilt oder metrisch, wurden die Daten im Rahmen univariater Allgemeiner Linearer Modelle varianzanalytisch auf ihre statistische Signifikanz und inhaltliche Relevanz geprüft.

Differenzen wurden als signifikant angesehen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p$  kleiner als 5% war, also  $p < 0,05$ . Gleiches gilt für das Signifikanzlevel der Korrelationskoeffizienten.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Probandencharakteristik

#### 4.1.1 Baselinecharakteristik

Das gesamte Kollektiv wurde durch 74 Studienteilnehmer gebildet, wovon jeweils 37 der Placebo- oder Verumgruppe angehörten. Tabelle 5 zeigt deren grundlegende Charakteristik. Ein deutlicher Unterschied zeigte sich dabei im Anteil der männlichen Personen zwischen Verum- und Placebogruppe. Es fand sich eine Differenz von 13,5%, zugunsten der Verumgruppe. Ebenso war der Anteil der Raucher in der Verumgruppe doppelt so groß wie in der Placebogruppe.

**Tab. 5:** Allgemeine Baselinecharakteristik

	Verumgruppe (n=37)	Placebogruppe (n=37)	Total (n=74)
<b>Geschlecht männlich</b> [%]	48,6	35,1	41,9
<b>Alter</b> [a; M ± SD]	46,2 ± 10,0	45,2 ± 10,7	45,7 ± 10,3
<b>Raucher</b> [%]	16,2	8,1	12,2
<b>Größe</b> [cm; M ± SD]	175,1 ± 9,5	172,5 ± 9,3	173,8 ± 9,4

Die zum Ersttermin bestimmten Blutwerte zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Verum- und Placebogruppe (Tab. 6). Aufgrund von nicht auszuschließender hämolytischer Beeinflussung der Probe fiel ein Teilnehmer der Verumgruppe bezüglich Vitamin B<sub>12</sub> aus der Statistik heraus. Gleiches galt für einen weiteren Probanden in Bezug auf dessen Folsäurewert.

In der kompletten Kohorte wiesen zu Beginn 5 von 73 Personen einen Vitamin B<sub>12</sub> – Spiegel unter 156 pmol/l auf, 4 davon innerhalb der Verum- und einer in der Placebogruppe. 6 von 73 Probanden zeigten Folsäurespiegel unter 8,6 nmol/l, 4 in der Placebogruppe, 2 innerhalb der Verumgruppe. Bei diesen Personen bestand damit per definitionem ein absoluter Vitaminmangel zu Beginn der Studie. Demgegenüber standen 23 von 74 Personen mit Hyperhomocysteinämien über 12 µmol/l, 8 Probanden in der Verum- und 15 in der Placebogruppe.

**Tab. 6:** Baselinecharakteristik der Blutwertanalysen

	Verumgruppe (n=37)	Placebogruppe (n=37)	Total (n=74)
<b>Vitamin B<sub>12</sub>*</b> [pmol/l; M ± SD]	272,4 ± 111,1	277,1 ± 90,3	274,8 ± 100,5
<b>Folsäure*</b> [nmol/l; M ± SD]	21,0 ± 9,2	20,9 ± 10,9	21,0 ± 10,0
<b>Homocystein</b> [µmol/l; M ± SD]	11,0 ± 3,0	12,1 ± 3,7	11,6 ± 3,4

\*Total (n=73); Verumgruppe (n=36)

Bezüglich der in der Pulswellenanalyse bestimmten Parameter zur Hämodynamik und Gefäßsteifigkeit konnten in der Eingangsuntersuchung keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden (Tab. 7). Die Werte entsprachen alle den empfohlenen Referenzen.

**Tab. 7:** Baselinecharakteristik der PWA-Parameter

	Verumgruppe (n=37)	Placebogruppe (n=37)	Total (n=74)
<b>GEFÄßSTEIFIGKEIT</b>			
<b>PWV</b> [m/s; M ± SD]	6,9 ± 1,1	6,9 ± 1,4	6,9 ± 1,3
<b>AIx@75</b> [%; M ± SD]	17,2 ± 14,1	20,6 ± 16,9	18,9 ± 15,6
<b>AP</b> [mmHg; M ± SD]	9,2 ± 6,8	11,0 ± 8,1	10,1 ± 7,4
<b>RC</b> [%; M ± SD]	68,0 ± 8,1	67,7 ± 6,9	67,9 ± 7,5
<b>HÄMODYNAMIK</b>			
<b>cSPB</b> [mmHg; M ± SD]	119,6 ± 12,3	120,7 ± 16,9	120,1 ± 14,7
<b>cDBP</b> [mmHg; M ± SD]	83,9 ± 9,3	83,3 ± 10,6	83,6 ± 9,9
<b>cPP</b> [mmHg; M ± SD]	35,7 ± 10,6	37,3 ± 9,5	36,5 ± 10,0
<b>HMV</b> [l/min; M ± SD]	4,8 ± 0,8	4,8 ± 0,8	4,9 ± 0,8
<b>TPR</b> [s*mmHg/ml; M ± SD]	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2
<b>CI</b> [l/min*1/m <sup>2</sup> ; M ± SD]	2,5 ± 0,5	2,5 ± 0,5	2,6 ± 0,5
<b>HR</b> [min <sup>-1</sup> ; M ± SD]	61,4 ± 9,4	62,7 ± 1,4	62,0 ± 8,9

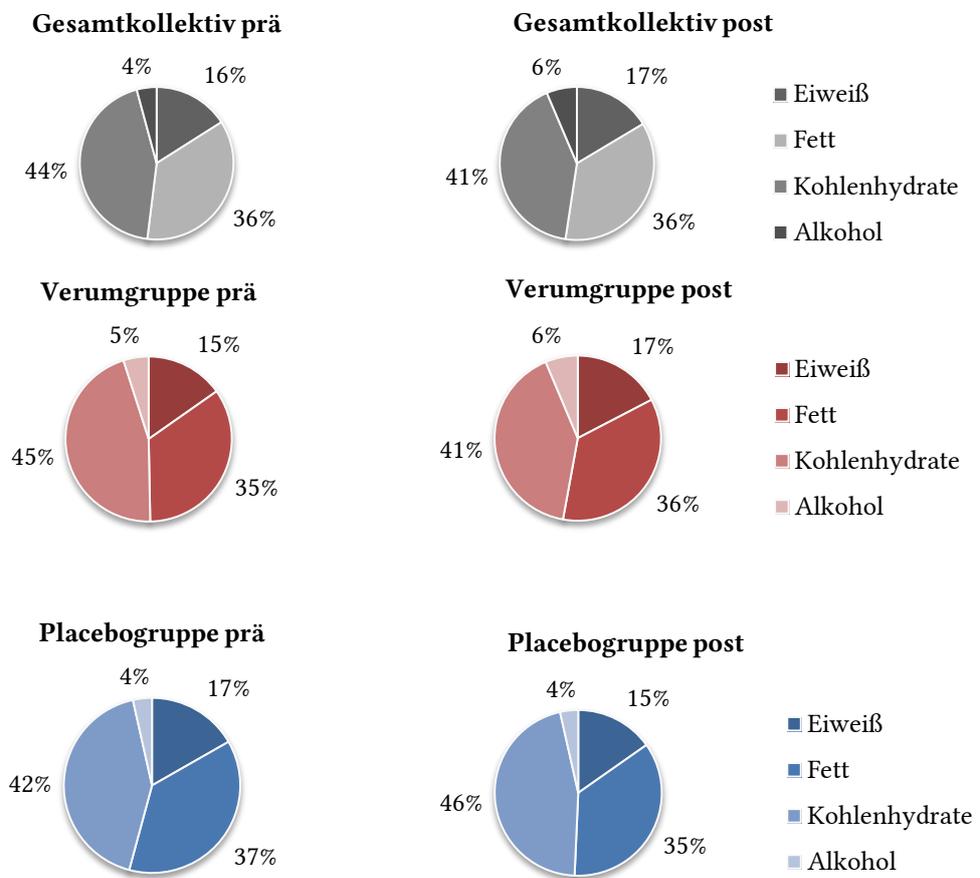
#### 4.1.2 BIA-Messung und Nährstoffanalyse

Durch die BIA konnten signifikante Unterschiede im Bereich des Körpergewichts (prä:  $p=0,023$ ; post:  $p=0,040$ ) und des Viszeralfetts (prä:  $p=0,019$ ; post:  $p=0,039$ ) zwischen Verum- und Placebogruppe aufgedeckt werden (Tab. 8).

**Tab. 8:** BIA – Charakteristik prä und post

	Verumgruppe (n=37)		Placebogruppe (n=37)		Total (n=74)	
	Prä	post	prä	post	prä	post
<b>Körpergewicht</b> [kg; M ± SD]	81,7 ± 17,7	81,0 ± 17,8	73,4 ± 12,7	73,4 ± 12,8	77,5 ± 15,8	77,2 ± 15,9
<b>Körperfett</b> [%; M ± SD]	26,5 ± 8,3	26,2 ± 8,4	26,1 ± 8,8	26,0 ± 8,9	26,3 ± 8,5	26,1 ± 8,6
<b>Fettfreie Masse</b> [kg; M ± SD]	56,7 ± 12,5	56,4 ± 12,5	51,5 ± 11,1	51,7 ± 11,4	54,1 ± 12,0	54,0 ± 12,1
<b>Körperwasser</b> [%; M ± SD]	53,1 ± 5,2	53,2 ± 5,2	53,6 ± 5,9	53,7 ± 6,0	53,4 ± 5,5	53,5 ± 5,6
<b>Viszeralfett</b> [ M ± SD]	7,8 ± 3,9	7,7 ± 3,8	5,8 ± 3,2	6,0 ± 3,2	6,8 ± 3,7	6,8 ± 3,6
<b>Knochenmasse</b> [kg; M ± SD]	3,0 ± 0,6	3,0 ± 0,6	2,7 ± 0,6	2,7 ± 0,6	2,8 ± 0,6	2,8 ± 0,6

Wie in Abbildung 11 erkennbar, wurden zu keinem Zeitpunkt klinisch relevante Unterschiede bezüglich der Nährstoffverteilung zwischen oder innerhalb der Gruppen festgestellt.



**Abb. 11:** Nährstoffanalysen im Gruppen- und prä-post-Vergleich

## 4.2 Blutwertanalysen

Tabelle 9 zeigt zusammenfassend die Ergebnisse der Blutuntersuchung nach Ablauf des 3-monatigen Interventionszeitraums.

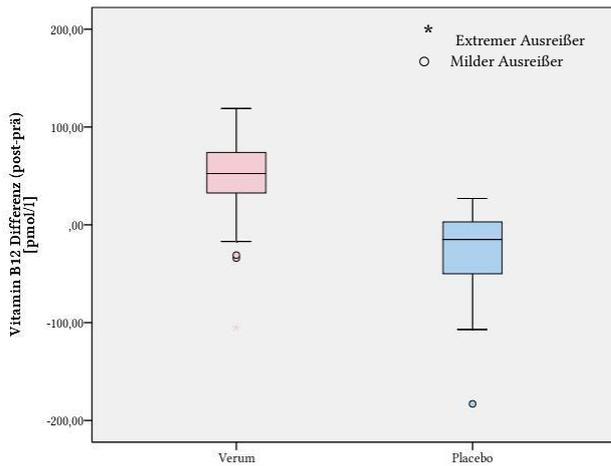
**Tab. 9:** Blutwertanalysen zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung

	post-Werte			Differenzen (post-prä)		
	Verum (n=37)	Placebo (n=37)	Sig. (2-seitig)	Verum (n=37)	Placebo (n=37)	Sig. (2-seitig)
<b>Vitamin B<sub>12</sub></b> [pmol/l]	318,8 ± 100,1	250,2 ± 71,0	0,001	46,4 ± 42,0	-26,9 ± 43,6	<0,001
<b>Folsäure</b> [nmol/l]	70,9 ± 20,7	20,5 ± 14,7	<0,001	49,9 ± 20,0	-0,5 ± 11,7	<0,001
<b>Homocystein</b> [µmol/l]	8,7 ± 1,8	11,5 ± 2,8	<0,001	-2,4 ± 2,4	-0,6 ± 2,4	0,003

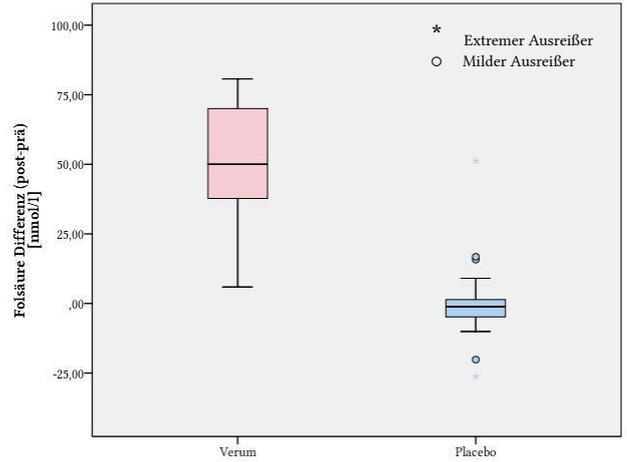
### 4.2.1 Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure

Betrachtet man die Werte der Vitamine B<sub>12</sub> und Folsäure in der Abschlussuntersuchung, werden statistisch signifikante Unterschiede zwischen Verum- und Placebogruppe sichtbar. Lagen die Serumkonzentrationen vor Einnahme des Vitalstoffkonzentrats noch eng beieinander (Tab. 6), waren die der Verumgruppe nach 12-wöchiger Intervention bedeutend höher als die der Placebogruppe (Tab. 9). Innerhalb der Placebogruppe zeigte sich ein weiterer Abfall des Vitamin B<sub>12</sub> auf Werte, die sich nach 3 Monaten signifikant von den Baselinewerten unterschieden (p=0,001). In der Gruppe mit dem Originalpräparat hingegen, konnten signifikante Erhöhungen beider Vitamine erzielt werden (p<0,001 für Folsäure; p<0,001 für Vitamin B<sub>12</sub>). Visuell verdeutlicht werden die starken Differenzen innerhalb und zwischen den Gruppen in den Abbildungen 12 und 13.

In der Placebogruppe fielen nach dem Interventionszeitraum drei Personen mit Folsäurewerten unter 8,6 mmol/l und ein Proband mit einem Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegel unter 156 pmol/l auf. Innerhalb der Verumgruppe zeigte zu diesem Zeitpunkt keiner einen absoluten Folsäuremangel, lediglich ein Proband lag bezüglich des Vitamin B<sub>12</sub> unter 156 pmol/l.



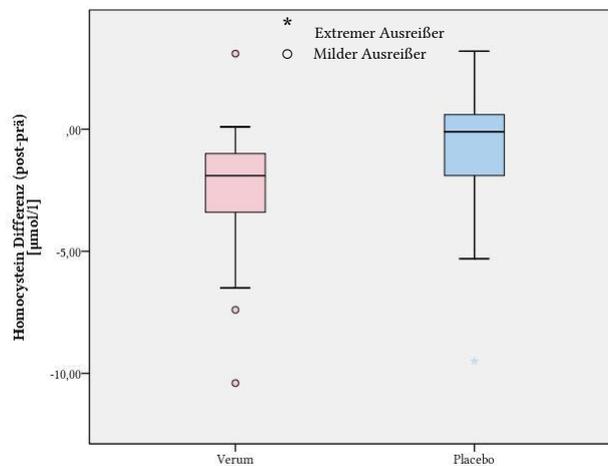
**Abb. 12:** Boxplot der Mittelwerte der Vitamin B<sub>12</sub>-Differenzen



**Abb. 13:** Boxplot der Mittelwerte der Folsäuredifferenzen

#### 4.2.2 Homocystein

Ähnlich der Vitaminspiegel zeigte auch der Homocysteinwert signifikante Unterschiede zwischen Verum- und Placebogruppe in der Abschlussuntersuchung. Zwar lagen die prä-Werte der Verumgruppe im Mittel schon zu Beginn leicht unter denen der Placebogruppe (Tab. 6), jedoch waren lediglich durch Einnahme des Vitalstoffkonzentrats so starke Senkungen des Homocysteinwerts, innerhalb des Interventionszeitraums, zu beobachten, dass sich die Werte statistisch signifikant ( $p < 0,001$ ) von denen der Eingangsuntersuchung unterschieden (Tab. 9). Während in der Verumgruppe die Homocysteinwerte innerhalb von 12 Wochen um 20,9% gesenkt werden konnten, entsprach die Reduzierung der Werte innerhalb der Placebogruppe lediglich 5%. Von den Probanden der Verumgruppe wiesen nach der Intervention lediglich 2 von 37 Personen Homocysteinwerte über  $12 \mu\text{mol/l}$  auf, in der Placebogruppe noch 13 von 37 Personen.



**Abb. 14:** Boxplot der Mittelwerte der Homocystein-Differenzen

### 4.2.3 Korrelation der B-Vitamine mit Homocystein

Dass die zuvor genannte Erhöhung der Vitaminwerte im Serum mit den erniedrigten Homocysteinspiegeln korrelieren, zeigen die Tab. 10 bis 15. Sowohl in der Eingangs-, als auch in der Abschlussuntersuchung konnte ein hochsignifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden (Tab. 10 bis 13). Zeitgleich traten stärkere Erhöhungen der Vitaminwerte mit stärkeren Senkungen der Homocysteinwerte auf (Tab. 14 und 15). Insbesondere Folsäure zeigte eine Wechselwirkung mit dem Homocystein und hatte einen noch wesentlicheren Einfluss auf die Homocysteinspiegel als Vitamin B<sub>12</sub>. An beiden Untersuchungszeitpunkten fanden wir einen signifikant mittelstarken negativen Zusammenhang für Folsäure und Homocystein und einen signifikant schwachen negativen Zusammenhang für Vitamin B<sub>12</sub> und Homocystein (Tab. 11 und 13).

In der Betrachtung der grafischen Darstellungen von Zusammenhängen der post-Werte (Abb. 17 und 18) und Differenzen (Abb. 19 und 20), fällt eine recht klare Gruppierung von Verum- und Placebogruppe auf. Findet man Teilnehmer, welche das Originalpräparat zu sich nahmen, in Bereichen, die niedrigere Homocystein- und zugleich höhere Vitaminwerte widerspiegeln, so liegen die meisten Probanden der Placebogruppe im entgegengesetzten Feld (Abb. 17 und 18). Ein ähnliches Bild ergibt sich für die Differenzen. Probanden der Verumgruppen liegen in Bereichen stärkerer Homocysteinabnahme und Vitaminanreicherung im Plasma (Abb. 19 und 20). Vor der Intervention fand sich eine ausgeglichene Durchmischung von Probanden beider Gruppen in der Abbildung der linearen Regression (Abb. 15 und 16).

**Tab. 10:** Korrelationsanalyse: prä-Vitaminwerte und prä-Hcy-Werte

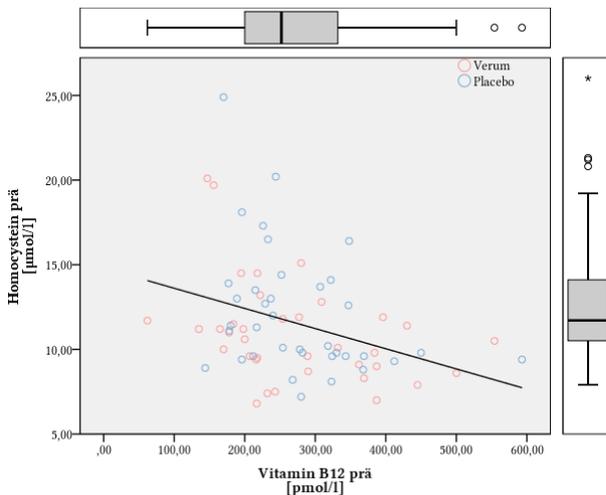
	Homocystein prä [ $\mu\text{mol/l}$ ]	
	Korrelation nach Pearson	Sig. (1-seitig)
Vitamin B <sub>12</sub> prä [pmol/l]	-0,349**	0,001
Folsäure prä [nmol/l]	-0,546**	<0,001

\*\* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (1-seitig) statistisch signifikant

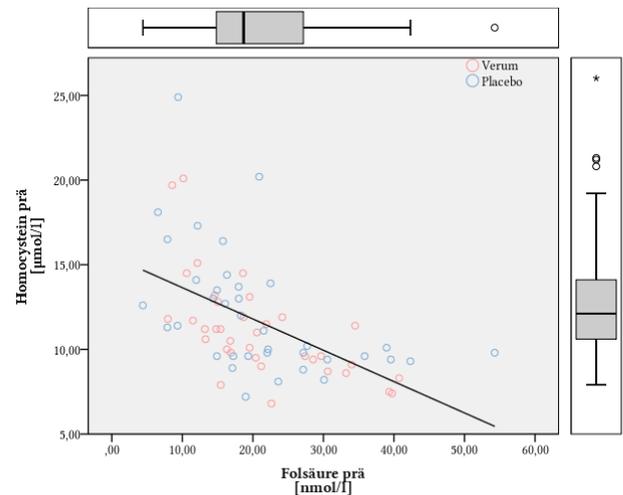
**Tab. 11:** Regressionsanalyse: prä-Vitaminwerte und prä-Hcy-Werte

	Homocystein prä [ $\mu\text{mol/l}$ ]			
	R <sup>2</sup> =0,321			
	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta	Sig. (1-seitig)
Vitamin B <sub>12</sub> prä [pmol/l]	-0,005	0,004	-0,159	0,070
Folsäure prä [nmol/l]	-0,165	0,036	-0,489	<0,001

ANOVA Sig.: <0,001



**Abb. 15:** Lineare Regressionsanalyse: prä-Vit.B<sub>12</sub>-Werte und prä-Hcy-Werte



**Abb.16:** Lineare Regressionsanalyse: prä-Folsäurewerte und prä-Hcy-Werte

**Tab. 12:** Korrelationsanalyse: post-Vitaminwerte und post-Hcy-Werte

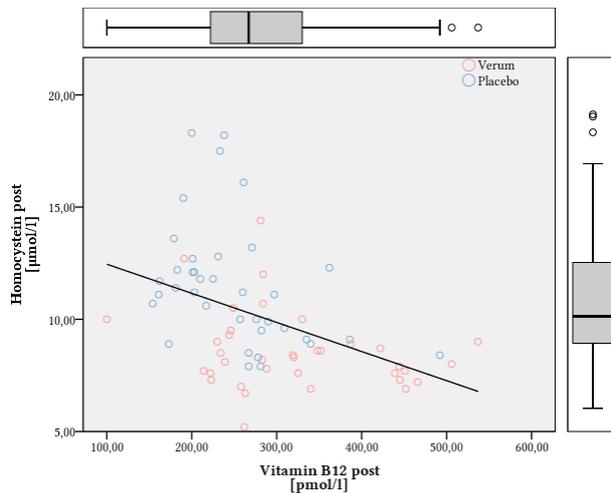
	Homocystein post [ $\mu\text{mol/l}$ ]	
	Korrelation nach Pearson	Sig. (1-seitig)
Vitamin B <sub>12</sub> post [pmol/l]	-0,441**	<0,001
Folsäure post [nmol/l]	-0,565**	<0,001

\*\* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (1-seitig) statistisch signifikant

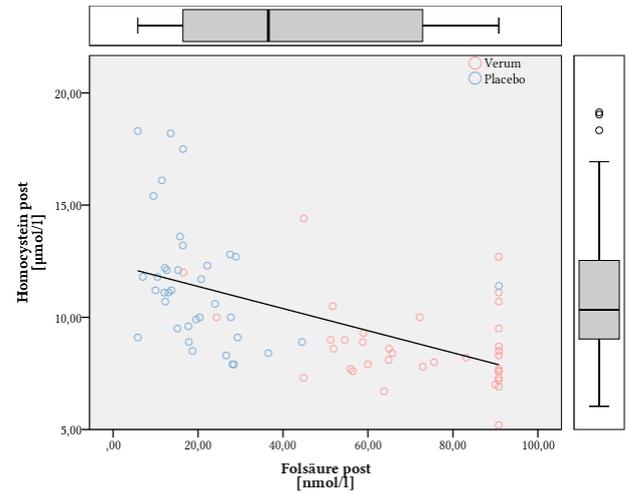
**Tab. 13:** Regressionsanalyse: post-Vitaminwerte und post-Hcy-Werte

	Homocystein post [ $\mu\text{mol/l}$ ]			
	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta	Sig. (1-seitig)
Vitamin B <sub>12</sub> post [pmol/l]	-0,007	0,003	-0,231	0,014
Folsäure post [nmol/l]	-0,043	0,009	-0,491	<0,001

ANOVA Sig.: <0,001



**Abb. 17:** Lineare Regressionsanalyse: post-Vit.B12-Werte und post-Hcy-Werte



**Abb. 18:** Lineare Regressionsanalyse: post-Folsäurewerte und post-Hcy-Werte

**Tab. 14:** Korrelationsanalyse: post-prä-Diff. der Vitaminwerte und Diff. der Hcy-Werte

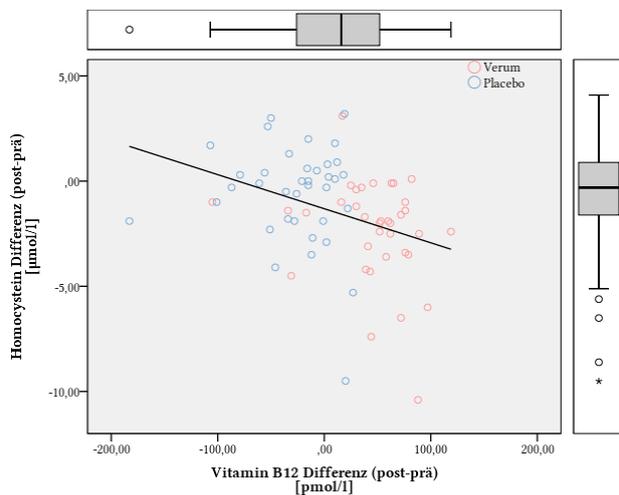
	Homocystein Differenz [ $\mu\text{mol/l}$ ]	
	Korrelation nach Pearson	Sig. (1-seitig)
Vitamin B <sub>12</sub> Diff. [ $\mu\text{mol/l}$ ]	-0,353**	0,001
Folsäure Diff. [ $\text{nmol/l}$ ]	-0,393**	<0,001

\*\* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (1-seitig) statistisch signifikant

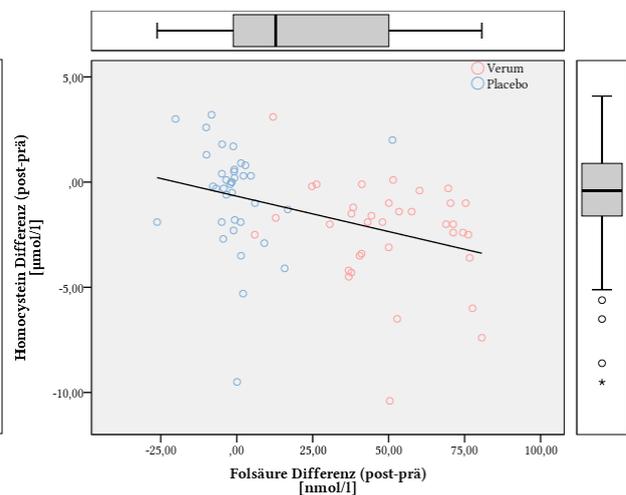
**Tab. 15:** Regressionsanalyse: post-prä-Diff. der Vitaminwerte und Diff. der Hcy-Werte

ANOVA Sig.: <0,001

	Homocystein Differenz [ $\mu\text{mol/l}$ ]			
	R <sup>2</sup> =0,183			
	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta	Sig.(1-seitig)
Vitamin B <sub>12</sub> Diff. [ $\mu\text{mol/l}$ ]	-0,009	0,006	-0,200	0,072
Folsäure Diff. [ $\text{nmol/l}$ ]	-0,024	0,012	-0,278	0,022



**Abb. 19:** Lineare Regressionsanalyse: post-prä-Diff. der Vit. B<sub>12</sub>-Werte und Diff. der Hcy-Werte



**Abb. 20:** Lineare Regressionsanalyse: post-prä-Diff. der Folsäurewerte und Diff. der Hcy-Werte

#### 4.2.4 Pulswellenanalyse

Innerhalb der hämodynamischen Parameter (Tab. 16) war während des Interventionszeitraums lediglich eine signifikante Abnahme des zentralen systolischen und diastolischen Blutdrucks der Placebogruppe zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung zu beobachten ( $p=0,026$  für cSBP;  $p=0,001$  für cDBP). Dies spiegelte sich auch in der Differenz des zentralen diastolischen Blutdrucks wider. Die Höhe der Änderung in der Placebogruppe unterschied sich signifikant von der Differenz der Verumgruppe. Der zentrale diastolische Blutdruck sank in der Verumgruppe kaum.

**Tab. 16:** Vergleich der post-Werte und Differenzen zwischen Verum- und Placebogruppe

	post-Werte			Differenzen (post-prä)		
	Verum	Placebo	Sig. (2-seitig)	Verum	Placebo	Sig. (2-seitig)
<b>cSBP</b> [mmHg; M ± SD]	118,0 ± 12,8	116,8 ± 13,0	0,680	-1,6 ± 8,8	-3,9 ± 10,2	0,304
<b>cDBP</b> [mmHg; M ± SD]	83,8 ± 8,8	80,5 ± 10,1	0,138	-0,2 ± 5,9	-2,8 ± 4,9	0,038
<b>cPP</b> [mmHg; M ± SD]	34,3 ± 8,6	36,3 ± 8,7	0,309	-1,4 ± 9,1	-1,0 ± 10,1	0,848
<b>HMV</b> [l/min; M ± SD]	4,8 ± 1,1	4,8 ± 1,1	0,604	0,0 ± 0,9	0,0 ± 0,9	0,908
<b>PR</b> [s*mmHg/ml; M ± SD]	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	0,233	0,0 ± 0,2	0,0 ± 0,2	0,278
<b>CI</b> [l/min * 1/m <sup>2</sup> ; M ± SD]	2,5 ± 0,6	2,5 ± 0,6	0,160	0,0 ± 0,5	0,0 ± 0,5	0,905

Ähnlich wenige Veränderungen zeigten sich in der Gefäßsteifigkeit (Tab. 17). Zwischen den post-Werten und Differenzen der beiden Gruppen gab es keinerlei statistisch signifikante Unterschiede. Lediglich innerhalb der Verumgruppe war zwischen den prä- und post-Werten ein signifikanter Unterschied des Augmentationsindex@75 zu beobachten ( $p=0,047$ ). Dieser war nach den 12 Wochen der Intervention gestiegen.

**Tab. 17:** Vergleich der post-Werte und Differenzen zwischen Verum- und Placebogruppe

	post-Werte			Differenzen (post-prä)		
	Verum	Placebo	Sig. (2-seitig)	Verum	Placebo	Sig. (2-seitig)
<b>PWV</b> [m/s; M ± SD]	6,9 ± 1,1	6,8 ± 1,3	0,674	0,0 ± 0,3	-0,1 ± 0,4	0,249
<b>AIx@75</b> [%; M ± SD]	22,7 ± 17,9	19,4 ± 16,6	0,414	5,4 ± 16,1	-1,2 ± 16,5	0,084
<b>AP</b> [mmHg; M ± SD]	10,2 ± 6,2	10,0 ± 6,6	0,885	1,1 ± 5,8	-1,0 ± 7,1	0,177
<b>RC</b> [%; M ± SD]	67,6 ± 7,6	68,0 ± 9,1	0,814	-0,5 ± 10,7	0,3 ± 9,1	0,736

#### 4.2.5 Korrelation der B-Vitamine und Homocystein mit der Hämodynamik und Gefäßsteifigkeit

Während in der Erstuntersuchung (Tab. 18) eine positive Korrelation zwischen der Folsäure und Pulswellengeschwindigkeit sowie dem Augmentationsdruck nachzuweisen war, konnten am zweiten Termin (Tab.19) keinerlei Korrelationen mehr festgestellt werden.

**Tab. 18:** Korrelationsanalyse: Zusammenhang der B-Vitamine und Homocystein mit Hämodynamik und Gefäßsteifigkeit - prä

	Vitamin B <sub>12</sub> prä		Folsäure prä		Homocystein prä	
	Korrelationskoeffizient	Sig. (1-seitig)	Korrelationskoeffizient	Sig. (1-seitig)	Korrelationskoeffizient	Sig. (1-seitig)
<b>PWV prä [m/s]</b>	0,062	0,302	0,387**	0,000	-0,151	0,100
<b>AIx@75 prä [%]</b>	-0,019	0,435	0,163	0,085	0,051	0,334
<b>AP prä [mmHg]</b>	-0,023	0,424	0,204*	0,042	0,063	0,297
<b>cSBP prä [mmHg]</b>	-0,114	0,168	0,141	0,116	0,022	0,426
<b>cDBP prä [mmHg]</b>	-0,186	0,057	0,085	0,238	0,039	0,370
<b>cPP prä [mmHg]</b>	0,022	0,425	0,120	0,157	-0,005	0,485

\*\*Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (1-seitig) signifikant

\* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (1-seitig) signifikant

**Tab. 19:** Korrelationsanalyse: Zusammenhang der B-Vitamine und Homocystein mit Hämodynamik und Gefäßsteifigkeit - post

	Vitamin B <sub>12</sub> post		Folsäure post		Homocystein post	
	Korrelationskoeffizient	Sig. (1-seitig)	Korrelationskoeffizient	Sig. (1-seitig)	Korrelationskoeffizient	Sig. (1-seitig)
<b>PWV post</b> [m/s]	-0,013	0,911	0,192	0,104	0,027	0,820
<b>AIx@75</b> post[%]	0,070	0,557	-0,008	0,949	-0,093	0,433
<b>AP post</b> [mmHg}	0,009	0,937	-0,050	0,675	-0,089	0,453
<b>cSBP post</b> [mmHg]	-0,147	0,216	0,132	0,267	-0,035	0,769
<b>cDBP post</b> [mmHg]	-0,055	0,646	0,646	0,050	-0,008	0,945
<b>cPP post</b> [mmHg]	-0,157	0,184	-0,059	0,622	-0,043	0,719

## 5. Diskussion

Mithilfe unserer 12-wöchigen Interventionsstudie konnte der Nutzen einer Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäuresupplementierung, in Form eines neuen Vitalstoffkonzentrates, überprüft werden. Insgesamt flossen die Daten von 74 Personen im Alter von 30 bis 60 Jahren in die Untersuchungen an den Standorten Halle/Saale und Kassel ein. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass durch die Einnahme des getesteten Präparates signifikante Erhöhungen der Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäurewerte im Blutplasma erzielt werden konnten. Diese korrelierten im gleichen Zeitraum mit einer Senkung des Homocysteinspiegels im Plasma, wobei v.a. Folsäure eine hochsignifikante Wechselwirkung mit Homocystein aufwies. Parameter der Hämodynamik und Gefäßsteifigkeit blieben durch die Intervention weitestgehend unverändert.

### 5.1 Methodik

Ursprünglich wurde die Studie für ein Kollektiv von 100 Probanden konzipiert, welche jeweils 50:50 auf die Verum- und Placebogruppe aufgeteilt werden sollten. Innerhalb des Akquirierungszeitraums meldeten sich ausreichend potenzielle Kandidaten, wobei großer Wert auf die Ein- und Ausschlusskriterien gelegt wurde. Dadurch kamen letztlich nur 83 Personen für die Studie in Betracht, um eine Verzerrung der Ergebnisse zu vermeiden. 75 Probanden davon beendeten erfolgreich die Studie. Dies entspricht einer Abbrecherquote von nur 10%. Hauptgründe für ein vorzeitiges Beenden waren terminliche oder logistische Probleme am entsprechenden Tag der Abschlussuntersuchung, nach exakt 12 Wochen der Intervention. Die 74 Teilnehmer, deren Daten im Nachhinein für die Auswertung verwendet werden konnten, bildeten eine kleinere Stichprobe als ursprünglich geplant. Dies reduziert die statistische Power der Daten.

Die Randomisierung der Probanden durch unabhängige Wissenschaftler trug entscheidend zur Sicherung der internen Validität bei. Zufällig ergab sich daraus, dass der Anteil männlicher Probanden und Raucher in der Verumgruppe zu Beginn signifikant höher war. Beide Merkmale stellen ein erhöhtes Risiko für eine Hyperhomocysteinämie dar und können sich negativ auf Hämodynamik und Gefäßsteifigkeit auswirken [24]. Signifikante Unterschiede der entsprechenden Parameter konnten wir in der Baselinecharakteristik zwischen Verum- und Placebogruppe allerdings nicht feststellen, sodass dies in der Ergebnisbeurteilung vernachlässigt werden kann.

Die signifikant höheren Körpergewicht- und Viszeralfettwerte sind mutmaßlich auf den größeren Anteil männlicher Probanden in der Verumgruppe zurückzuführen. In den erhobenen Nährstoffanalysen wurden keine klinisch relevanten Unterschiede zwischen den

Gruppen und Untersuchungszeitpunkten auffällig, welche die Ergebnisse beeinflussen hätten können.

Die Charakterisierung der Probanden als „gesund“ wurde von uns auf Grundlage einer ausführlichen Anamnese, subjektivem Wohlbefinden und möglicher Medikamenteneinnahmen vorgenommen. Ein Ausschluss aufgrund von pathologischen Werten, in den von uns durchgeführten klinischen Untersuchungen, fand nur bei groben Auffälligkeiten statt. Eine weiter differenzierte Betrachtung von Probanden mit subklinischem Vitaminmangel und/oder auffälligen hämodynamischen Parametern fand jedoch nicht statt. Daher war eine klare Trennung zwischen primär- und sekundärpräventiver Funktion schwer möglich. Man konnte nur anhand der erhobenen Parameter mutmaßen, ob bzw. inwieweit bereits pathologische Veränderungen im kardiovaskulären System bei den Probanden vorlagen. Eine genauere Differenzierung hätte weitere Aufschlüsse bezüglich Unterschiede der Konzentrateinnahme in Primär- und Sekundärprävention bringen können. Jedoch wäre die jeweilige Stichprobengröße noch weiter gesunken.

Das Placebopräparat wurde dem Originalpräparat in Bezug auf Verpackung, Farbe, Konsistenz und Geschmack möglichst nah nachempfunden. Im direkten Vergleich war es allerdings zu unterscheiden. Die Teilnehmer wurden deshalb dazu angehalten nicht von den Präparaten anderer zu probieren.

Das Prozedere verlief doppelt verblindet, sodass auch die beteiligten Untersucher zum Zeitpunkt der Verteilung keine Auskunft geben konnten, in welchen Flaschen wirkstoffhaltige Konzentrate enthalten waren. Die randomisiert kontrollierte Doppelblindstudie gilt als Goldstandard zur klinischen Überprüfung der Wirksamkeit neuer Präparate und wurde auch im Bereich der Nahrungsergänzungsmittel schon vorher erfolgreich angewendet [43].

Blutentnahme und oszillometrische Messung der hämodynamischen Parameter wurden zu allen Untersuchungsterminen vom jeweils selben, fachkundigen Personal, bestehend aus Sport- und Ernährungswissenschaftlern sowie Medizinern, durchgeführt. Damit sollten an den verschiedenen Standorten und während Eingangs- und Abschlussuntersuchung möglichst identische Bedingungen geschaffen werden.

Im Umgang mit den entnommenen Blutproben richteten wir uns streng nach den Vorgaben des Zentrallabors des Uniklinikums Halle und den entsprechenden Angaben der Roche Deutschland Holding GmbH, deren Systeme wir zur Analyse nutzten. Erythrozyten sind in der Lage auch in vitro Homocystein zu bilden und in das Plasma abzugeben. Ähnliches gilt für Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure, bei denen die Werte aufgrund einer Hämolyse falsch hoch ausfallen können. Um diese artifizielle Freisetzung zu vermeiden, wurden alle Proben innerhalb von 10 Minuten zentrifugiert und so das Plasma von den Blutzellen getrennt. Im Anschluss folgte die

gekühlte, lichtgeschützte Lagerung bei 2-8°C. Während die Proben am Standort Halle innerhalb von maximal 6 Stunden an das Labor übergeben werden konnten, wurden einige Proben des Standorts Kassel bis zu 32 Stunden von uns gelagert. Aufgrund der optimalen Aufbewahrungsbedingungen ist eine Verfälschung der Werte diesbezüglich unwahrscheinlich, jedoch nicht gänzlich ausgeschlossen.

Die Probanden wurden gebeten sich unbedingt an die Nüchternheit vor der Blutentnahme zu halten, da in der Nahrung befindliches Methionin zu erhöhten Homocysteinkonzentrationen führen kann. Dabei waren wir auf die wahrheitsgemäßen Angaben der Probanden angewiesen.

Bei der Betrachtung der Folsäurewerte fiel auf, dass innerhalb der Verumgruppe 15 Probanden zur Abschlussuntersuchung einen Plasmaspiegel von exakt 90,8 nmol/l aufwiesen. Es ist anzunehmen, dass dies die höchstmöglich zu bestimmende Konzentration des genutzten Analysegerätes ist. Damit ist eine genaue Aussage über die tatsächliche Erhöhung der Plasmakonzentrationen nicht möglich.

Die hier substituierte Folsäure liegt in Form von unaktivierter Pteroylmonoglutaminsäure vor und entspricht einer Wirkstoffkonzentration von 600 µg pro Tagesportion. Laut der nationalen Verzehrsstudie II liegt der Median der Zufuhr an Folat-Äquivalenten aus der Nahrung bei Männern bei 283 µg/Tag und bei Frauen bei 252 µg/Tag [1]. Damit befindet sich, trotz Substitution, die Gesamttageszufuhr innerhalb des sicheren Bereichs von 1000 µg/Tag für gesunde Erwachsene.

Es ist daher nicht davon auszugehen dass die Plasmakonzentrationen der Probanden der Verumgruppe in potentiell gesundheitsgefährdenden Bereichen lagen. Keiner der Befragten gab mögliche Nebenwirkungen wie Schlafstörungen, Erregung, Hyperaktivität, Übelkeit, Blähungen, eine gestörte Geschmacksempfindung oder allergische Reaktionen wie Erytheme, Pruritus und Urtikaria an.

Aussagen zum jeweiligen Folsäure- und Vitamin B<sub>12</sub>-Status der einzelnen Probanden allein auf der Grundlage einzelner Serumwerte sind diffizil zu betrachten. Auch deshalb entschieden wir uns für die zusätzliche Bestimmung des Homocysteins. Als kollaborierendes Intermediärprodukt gibt es aussagesteigernde Informationen zur Funktionalität beider von uns betrachteten Vitamine im Stoffwechselsystem.

Zur frühzeitigen Erkennung einer negativen Vitamin B<sub>12</sub>-Bilanz empfiehlt sich die Bestimmung des Holo-Transcobalamins (Holo-TC). Circa 20% des Vitamins zirkulieren in dieser metabolisch aktiven Form im Blut. Ein isoliert niedriges Holo-TC in Kombination mit einer erhöhten Konzentration an Methylmalonsäure, einem weiteren Vitamin B<sub>12</sub>-abhängigen Zwischenprodukt im Aminosäurestoffwechsel, weist auf einen metabolisch manifesten

Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel hin, bevor die Werte des Gesamt-Vitamin-B<sub>12</sub> erniedrigt sind [44]. Somit ist die Methode deutlich sensitiver, jedoch auch kostenintensiver. Der Verzicht auf diese Form der weiteren Diagnostik limitiert die Aussagen zum Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel in unserer Untersuchung.

Als ebenfalls substituiertes und in den Homocysteinestoffwechsel wesentlich involviertes Vitamin, haben wir dem Vitamin B<sub>6</sub> in unserer Studie keine weitere Betrachtung geschenkt. Inwieweit dieses, aber auch andere im Präparat enthaltene Vitalstoffe, einen Einfluss auf unsere Ergebnisse haben, bleibt unklar.

Aufgrund der nachgewiesenen guten Vergleichbarkeit der oszillometrischen Messung hämodynamischer Parameter mithilfe des Mobil-O-Graph® PWA mit invasiven [32] und anderen nichtinvasiven Techniken [31, 33], entschieden wir uns für dieses System. Die klinische Validität beruht darauf, dass die Ergebnisse aortaler Katheter-Messungen mit denen der nichtinvasiven Methodiken der Oberarmmessung sehr gut übereinstimmen. Es zeigte sich eine Korrelation von  $r = 0,81$  und eine Wiederholungsgenauigkeit von  $0,05 \text{ m/s}$  [32]. Gleichzeitig ist der Zeit- und Kostenaufwand der nichtinvasiven Methoden deutlich geringer. Für die Probanden besteht nahezu kein Risiko, die Untersuchung kann beliebig oft wiederholt werden.

Die oszillometrische Messung sollte laut Hersteller im Optimalfall drei Messvorgänge pro Untersuchung beinhalten. Aufgrund des zeitlichen Aufwands, beschränkten wir uns auf jeweils eine Messung, wenn die Datenqualität vom Gerät gut oder sehr gut und damit glaubhaft eingeschätzt wurde. Eine Wiederholung fand nur bei unzureichender Datenqualität statt. Der Verzicht auf standardmäßig mehrfach durchgeführte Messungen zur Überprüfung der Einzelwerte, erhöht die Wahrscheinlichkeit unentdeckt verfälschter Werte aufgrund von Störfaktoren. Daher versuchten wir optimale Bedingungen für die Probandenuntersuchung zu schaffen. Die PWA erfolgte planmäßig zu einem möglichst ruhigen Zeitpunkt nach dem Ausfüllen der Fragebögen und noch vor der Blutentnahme, um eine eventuelle Aufregung durch diese zu vermeiden. Zudem wurden die Studienteilnehmer angehalten, sich vor dem Termin nicht übermäßig körperlich zu betätigen. Es wurde an beiden Standorten ein separater Ruheraum genutzt. Die Untersuchung erfolgte im Liegen, die Probanden wurden angewiesen, Armbewegungen während der Messung zu vermeiden. Von Bedeutung war zudem die Auswahl der individuell korrekten Blutdruckmanschettengröße. Diese kann essenziell die ermittelten Werte beeinflussen [29]. Trotz all dieser Maßnahmen ließen sich keine absolut identischen Bedingungen während der Eingangs- und Abschlussuntersuchung schaffen. Somit können wir geringfügige Abweichungen der Werte durch externe Einflüsse nicht gänzlich ausschließen.

Eine wesentliche Limitierung erfährt die Studie bezüglich des kurzen Interventionszeitraums über 12 Wochen. Wir entschieden uns für dieses Intervall zwischen den Untersuchungsterminen, da vergleichbare Studien den höchsten Anstieg der Vitaminwerte innerhalb von 3 Monaten beschrieben.

Ob bei fortgeführter Supplementierung auch bei unseren Probanden im weiteren Verlauf eine Regredienz des Anstiegs mit Erreichen eines Plateaus bezüglich der Vitaminserumspiegel eingetreten wäre, bleibt offen. Naheliegend ist dies jedoch aufgrund der kapazitätsbegrenzten Aufnahme- und Speichermöglichkeiten der Vitamine im Körper [45]. Nach Refsum et al. normalisieren sich mäßig erhöhte Homocysteinwerte, wie sie bei vielen unserer Probanden vorlagen, bereits 1 bis 2 Wochen nach ausreichender Folsäurezufuhr [46]. McMahon et al. beobachteten, dass jedoch erst nach 12 Monaten das niedrigste Homocysteinlevel durch Applikation von Vitamin B<sub>12</sub>, Folsäure und Vitamin B<sub>6</sub> eintritt [47]. Unsere Probanden lagen nach 3 Monaten bereits deutlich unterhalb der als pathologisch vermuteten Homocystein-Grenze von 10 µmol/l. Daher gehen wir davon aus, dass sich das klinische Outcome auch bei potentiell noch weiterer Senkung des Homocysteins nicht wesentlich geändert hätte.

Es bleibt aber fraglich, ob 12 Wochen ausreichen, um wesentliche Veränderungen der Hämodynamik, insbesondere der Gefäßelastizität, messbar darzustellen.

Die therapeutisch bedeutendste Möglichkeit zur Senkung der arteriellen Gefäßsteifigkeit, dem sogenannten De-Stiffening, ist die antihypertensive Therapie. Über eine Reduktion der transmuralen Wandspannung wird die Gefäßelastizität verbessert. Das pathophysiologische Remodeling der Arterienwandstruktur erfolgt durch dauerhafte Druckentlastung, in Kombination mit blutdruckunabhängigen positiven Effekten auf die Gefäßsteifigkeit. Dazu zählen beispielsweise Wirkungen auf Fibrose, Kollagen und extrazelluläre Matrix. Diese wiederum unterliegen u.a. dem Einfluss von Homocystein.

Strukturveränderungen dieser Art bedürfen jedoch Monate oder gar Jahre, bis sie in letzter Konsequenz PWV und AIx wesentlich beeinflussen. Dabei sei auch zu bedenken, dass die Rückbildung bereits pathologischer Umbauten nicht in Gänze oder nur schwer und langsam möglich ist [48].

Besser lassen sich Aussagen zu einer klinisch relevanten Veränderung des Blutdruckstatus nach 3 Monaten treffen. Daher sahen wir in der Messung von Blutdruckwerten und direkt damit assoziierten Parametern die Möglichkeit der kurzfristigen Überprüfung einer klinischen Wirksamkeit der Intervention. Wir nutzten die, im Vergleich zu peripheren Werten, aussagekräftigeren zentralen Blutdruckparameter [25].

In unserer Studie lagen jedoch alle Probanden zu jedem Zeitpunkt in einem normotensiven Bereich. Geringe, wenn auch signifikante Änderungen, traten nur innerhalb der Placebogruppe auf.

Ebenso ließen sich keine messbaren Pathologien in der Gefäßelastizität der Probanden

eruierten. Es war innerhalb der Studienkohorte daher nicht von starken Strukturveränderungen auszugehen. Schlicht sei gesagt, dass eine weitere Verbesserung der von Beginn an sehr guten hämodynamischen Parameter kaum möglich war.

Damit traten primärpräventive Effekte der Intervention in den Vordergrund. Es würde allerdings einer Nachverfolgung über mehrere Jahre oder gar Jahrzehnte bedürfen, um herauszufinden, ob die Probanden durch die Supplementierung einen besseren Gefäßstatus beibehalten als die Probanden der Placebogruppe.

## 5.2 Ergebnisse

### 5.2.1 Ergebnisse der Blutwertanalysen

Zu Beginn lagen die gesunden Probanden beider Vergleichsgruppen im mittleren bis unteren Normalbereich bezüglich der gemessenen Vitamin-Referenzwerte im Blut. Nach nur 12-wöchiger Einnahme des fluiden Vitalstoffkonzentrats konnten signifikante Verbesserungen der Folsäure- und Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegel bei allen Personen der Verumgruppe erzielt werden. Innerhalb der Placebogruppe kam es dagegen sogar zu einem weiteren Absinken der Werte. Dies bestätigt die Ergebnisse einer 2015 publizierten Studie. Dabei wurde ein vergleichbares Multivitaminfluid verwendet und ebenso eine positive Auswirkung auf die Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäurespiegel nach nur 3 Monaten aufgezeigt [45]. Von Vorteil könnte die flüssige Form beider Konzentrate sein, da dabei von einer generell besseren Bioverfügbarkeit ausgegangen wird als bei Tabletten- oder Kapsleinnahme [49].

Bedenklich erschienen die Homocysteinwerte beider Probandengruppen in der Baselinecharakteristik. Im Mittel lagen diese an der Grenze zur moderaten Hyperhomocysteinämie (12 µmol/l), obwohl die B-Vitaminwerte im empfohlenen Bereich angesiedelt waren. Zusätzlich lag die absolute Anzahl an Probanden, welche per definitionem einen Vitaminmangel aufwiesen, schon zu Beginn der Studie deutlich unter der absoluten Zahl von Personen mit Hyperhomocysteinämie.

Dabei nutzten wir für unsere Betrachtung die niedrigsten beschriebenen Referenzwerte der Vitamine. Es bestand für uns ein absoluter Vitaminmangel erst unter 156 pmol/l für Vitamin B<sub>12</sub> und 8,6 nmol/l für Folsäure. Im Gegensatz dazu betrachteten wir die noch maximal tolerierbare Homocysteinmenge von 12 µmol/l. Mittlerweile werden die minimal tolerierbaren Werte für Vitamine oft höher angesetzt. Zeitgleich wird eine Homocysteinkonzentration unter 10 µmol/l empfohlen. In Bezug auf diese Referenzen wären noch deutlich mehr unserer Probanden definitionsgemäß von einem B-Vitamin-Mangel betroffen und würden eine Hyperhomocysteinämie aufweisen. Zwar sei zu bedenken, dass auch zahlreiche andere Faktoren Einfluss auf den Homocysteinspiegel nehmen, jedoch stützen die Ergebnisse unserer

Untersuchungen die Vermutung, dass Referenzwerte für Vitamine tatsächlich zu niedrig angesetzt sind. Wir konnten nachweisen, dass eine negative Korrelation zwischen Vitamin B<sub>12</sub> und Homocystein, noch stärker sogar zwischen Folsäure und Homocystein besteht. Graham und O'Callaghan [4]) beschreiben einen Anstieg des Homocysteins bereits bei Folsäurewerten unter 20-25 nmol/l. Im Mittel befanden sich unsere Probanden ohne Supplementierung innerhalb dieses Grenzbereichs. Daraus resultierend erreichten auch nur diejenigen, die das Vitalstoffpräparat konsumierten, einen Homocysteinwert, der in den wünschenswerten Bereich unter 10 µmol/l fiel [50].

### **5.2.2 Einfluss der Substitution auf die Parameter der Hämodynamik und Gefäßelastizität**

Betrachtet man die Messergebnisse beider Untersuchungstermine, zeigten sich im Mittel keine pathologischen Auffälligkeiten bezüglich der Hämodynamik und Gefäßelastizität. Die Werte des zentralen Blutdrucks lagen in der kompletten Kohorte zu beiden Zeitpunkten in einem als optimal geltenden Bereich um 120/80 mmHg. Auch PWV und AIx@75 ließen nicht auf subklinische Pathologien des Gefäßsystems schließen. Diese Ergebnisse passten zum subjektiv gut empfundenen Gesundheitsgefühl der Probanden. Dementsprechend wenige Wertoptimierungen zeigten sich auch während des Interventionszeitraums. Unklar bleibt die signifikante Erniedrigung des systolischen und diastolischen zentralen Blutdrucks innerhalb der Placebogruppe. Möglicherweise spielte dabei die sogenannte Winter-Hypertension eine Rolle. Der 12-wöchige Untersuchungszeitraum umfasste den jahreszeitlichen Wechsel vom Winter zum Frühjahr. Nachweislich liegen die Blutdruckwerte in kalten Monaten höher als in wärmeren [51]. Ob die Supplementierung der Vitalstoffe diese Blutdruckschwankungen reduzierte und daher keine Veränderungen innerhalb der Verumgruppe auftraten, lässt sich an dieser Stelle nicht klären.

Auffallend war außerdem der, im Vergleich zur Voruntersuchung, signifikant gestiegene AIx@75 innerhalb der Verumgruppe. Gemeinsam mit der ausbleibenden Senkung des zentralen Blutdrucks bei Einnahme des Präparates, sah dies mutmaßlich nach einem negativen Effekt der Substitution für die Probanden aus. Tatsächlich konnten wir in unserer Kohorte zu Beginn der Studie auch eine signifikant positive Korrelation zwischen Folsäurewerten und PWV sowie zwischen Folsäure und AP feststellen. Zu beachten sei dabei aber das ‚cum hoc ergo propter hoc‘: Zwar traten am Eingangstermin höhere Folsäurewerte im Plasma gemeinsam mit höheren PWV- und AP-Messung auf, trotzdem reichen unsere Untersuchungen nicht aus, um einen kausalen Zusammenhang herzustellen. Zum Abschlusstermin konnte diese Korrelation nicht mehr nachgewiesen werden.

Interessanterweise zeigten sich aber gewisse Parallelen in einer placebokontrollierten,

Doppelblindstudie von van Dijk et al.: Nach einer 2-jährigen Applikation von Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure bei älteren Probanden mit Hyperhomocysteinämie zeigten sich keine Änderungen bezüglich der PWV. Die Probanden, welche die Supplementierung erhielten, wiesen in den abschließenden Untersuchungen aber einen höheren PP auf. Gleichzeitig reduzierte sich, wenn auch nur bei Frauen, die Häufigkeit cerebrovaskulärer Ereignisse unter diesen Umständen signifikant [52]. Dieser paradoxe Zusammenhang zwischen augenscheinlich zunächst negativen Einflüssen auf hämodynamische Parameter und besserem klinischen Outcome für die Probanden benötigt weitere Untersuchungen.

Auf die langfristige Nachverfolgung bezüglich vaskulärer Komplikationen wurde in der von uns durchgeführten Studie gänzlich verzichtet.

### **5.3 Bedeutung der B-Vitamin-Substitution und Homocysteinspiegelsenkung in der Prävention und Therapie kardiovaskulärer Pathologien**

Mithilfe des von uns getesteten Präparates ließen sich die Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäurewerte im Serum innerhalb der Verumgruppe erhöhen. Daraus resultierend konnten auch die Homocysteinwerte bei diesen Probanden im Mittel auf 8,7 µmol/l gesenkt werden. Auch wenn die Empfehlungen optimaler Plasma-Homocysteinspiegel in der Literatur leicht schwanken, so weist die Mehrheit der Studien, konform mit den Empfehlungen der D.A.CH.-Liga Homocystein e.V., darauf hin, dass sich bereits Konzentrationen ab 10 µmol/l pathologisch auf den Organismus auswirken [50, 24]. Selbst dezent darüber liegende Werte können bereits mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergehen [53]. Die in Europa weit verbreiteten 12 µmol/l, als obere Limitierung des Normalbereichs, sind damit tendenziell als zu hoch anzusehen. Auch das Zentrallabor des Universitätsklinikums Halle, welches wir für die Analyse unserer Blutproben beauftragten, arbeitet jedoch mit diesem Referenzbereich.

Mittlerweile ist gesichert, dass Hyperhomocysteinämien mit verschiedenen Kreislauf-erkrankungen einhergehen. Es ist allerdings noch immer nicht abschließend geklärt, inwieweit Homocystein dabei nur als Marker oder aber tatsächlich als unabhängiger Risikofaktor für die Krankheitsentstehung fungiert. In den letzten Jahren etablierte sich zunehmend die Theorie des Risikofaktors [37]. Neben zahlreichen in-vitro-Versuchen und Beobachtungsstudien am Menschen, deuten auch Tierversuche darauf hin, dass Homocystein aufgrund seiner verschiedenen pathologischen Potenziale erheblich zur Manifestierung von Krankheiten des Kreislaufsystems beitragen kann [54].

Es wurde große Hoffnung in die Vitamin-induzierte Senkung erhöhter Homocysteinspiegel gelegt. Verschiedenste Untersuchungen zur Thematik wurden initiiert. Durch die Applikation von Folsäure in Dosierungen zwischen 0,4 mg und 10 mg täglich, teilweise in Kombination mit Vitamin B<sub>12</sub> und/oder Vitamin B<sub>6</sub>, konnten, je nach Ausgangswerten des Homocysteins

und der Vitamine, Reduzierungen der HCY-Werte von 16-39% erzielt werden [55]. Auch in unserer Untersuchung gelang eine Senkung der Werte um 20,9% durch die Vitalstoffsupplementierung in nur 12 Wochen.

Die erhofften eindeutigen Erfolge im Kampf gegen kardiovaskuläre Erkrankungen blieben durch die Vitamin-B- und Homocystein-Optimierung jedoch weitestgehend aus. Die Studienlage ist noch immer kontrovers. Ein aktuelles Review von Martí-Carvajal et al. beschreibt, dass Probanden bezüglich der Prävention eines Myokardinfarktes oder der Reduzierung der Todesrate aufgrund eines kardiovaskulären Ereignisses nicht von einer Vitamin-B-Supplementierung profitierten. Hoffnung macht allerdings die Tatsache, dass sich teilweise signifikante Reduzierungen für das Risiko einen primären oder sekundären Schlaganfall zu erleiden, zeigten [56].

Erwähnenswert erscheint außerdem, dass sich ein Großteil aktueller Studien auf bereits kardiovaskulär vorerkrankte Personen bezieht. Zwar weiß man nach McCullys Veröffentlichungen bereits seit fast 50 Jahren um die Bedeutung des Homocysteins [35], die aktive Forschung in Form von großangelegten Studien boomt jedoch erst seit den 2000ern. Inwiefern eine frühzeitige Primärprävention junger Menschen in Form einer B-Vitamin- und Homocysteinoptimierung sinnvoll ist, wird sich erst in den Ergebnissen einer neuen Generation interventioneller Langzeitstudien zeigen. Der bisherige Forschungszeitraum diesbezüglich ist schlicht zu kurz.

Tatsächlich scheint dies aber die erfolgsversprechendere Variante zu sein. Ein grundlegendes Problem beim Versuch der sekundär- und tertiärpräventiven Arbeit, bilden die bereits vorhandenen strukturellen Veränderungen im Organismus. Die These, dass eine moderate Hyperhomocysteinämie in diesem Fall eine gewisse protektive Funktion erfüllt und Probanden daher weniger von einer Senkung der Homocysteinwerte profitieren, erscheint plausibel [39], [23].

#### **5.4 Fazit zur 12-wöchigen Substitution des fluiden Vitalstoffkonzentrates „Myeniola“**

Bezüglich einer Optimierung des Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäurehaushalts erbrachte das von uns getestete Präparat in nur 12 Wochen die gewünschten Ergebnisse. Dies spricht für eine angemessene Stoffkonzentration bei guter Absorption und Verwertung der supplementierten Vitamine. Für uns erscheint eine prophylaktische Vitalstoffsupplementierung auch für offensichtlich gesunde Bevölkerungsanteile, über die Hochrisikogruppen hinaus, empfehlenswert. Um die Erfolge der Intervention aufrecht zu erhalten, sollten regelmäßige Kontrollen der Vitaminspiegel im Blut erfolgen. Dabei kann durch langfristige Substitution der Vitalstoffe bzw. regelmäßige kurthafte Anwendung ein phasenweiser Abfall der Vitaminkonzentrationen

in Bereiche der Mangelversorgung vermieden werden. Denn auch wenn noch nicht abschließend geklärt ist, welche Rolle die B-Vitamine als kardiovaskuläre Protektoren einnehmen, gibt es viele Ansatzpunkte, welche für eine Substitution der Vitamine sprechen. Aufgrund zahlreicher Schnittstellen und Wechselwirkungen diverser Vitamine im Stoffwechselkreislauf, sind Multivitaminpräparate, wie das hier thematisierte, eine sinnvolle Alternative zur Applikation von Einzelstoffen. Ein funktioneller Mangel an Folsäure kann beispielsweise durch einen Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel begünstigt werden. Eine Dreier-Kombination aus Vitamin B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> und Folsäure scheint in jedem Falle sinnvoll. Zu achten sei dabei auf das richtige Verhältnis der Vitamine zueinander, um Dysbalancen und daraus folgende Mangelsymptomatiken zu vermeiden [57]. Eine Orientierung bieten dem Verbraucher beispielsweise der Abgleich von Inhaltsstoffen mit den Empfehlungen der DGE zu Referenzwerten der Nährstoffzufuhr bzw. die Einhaltung der sicheren Gesamttageszufuhr. Das von uns getestete Präparat erfüllt die Kriterien eines bedarfsangepassten Nahrungsergänzungsmittels für gesunde Erwachsene.

Daher ist von keinem negativen Effekt der Einnahme auszugehen. Keiner der Probanden berichtete von Nebenwirkungen oder Unverträglichkeiten. Die unmittelbaren Auswirkungen auf hämodynamische Parameter waren gering. Die Veränderungen von Blutdruckparametern und Augmentationsindex lassen sich, aufgrund eines fehlenden Langzeit-Follow-ups, z.B. zur Häufigkeit vaskulärer Komplikationen im späteren Leben, schwer positiv oder negativ einordnen.

Nicht zuletzt ist die individuell notwendige Substitution verschiedener Vitalstoffe von zahlreichen anderen Faktoren wie Alter, Ernährungsgewohnheiten, körperlicher Aktivität, Rauchverhalten, etc. abhängig. Im Optimalfall sollte sie auf der regelmäßigen Kontrolle von entsprechenden Blutwerten basieren und bedarfsgerecht angepasst werden.

## 6. Zusammenfassung

Ein nicht unerheblicher Anteil der deutschen Bevölkerung weist bei subjektivem Gesundheitsgefühl eine Unterversorgung an B-Vitaminen, bis hin zu manifesten Mangelzuständen auf. Daraus resultierend erfreuen sich Nahrungsergänzungsmittel wachsender Beliebtheit und bilden einen schier unüberschaubaren Markt. Es bedarf klinischer Studien zur Prüfung der Wirksamkeit der verschiedenen Supplemente, um den Verbraucher bei einer individuell richtigen Auswahl zu unterstützen. Dies sollte auch die Intention dieser Arbeit werden.

In der randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie „Einfluss der 12-wöchigen Einnahme eines Vitalstoffkonzentrats auf Lebensqualität und Stimmung sowie gesundheitsrelevante Vital- und Blutparameter und das Immunsystem“ beobachteten wir 83 gesunde Erwachsene über einen Interventionszeitraum von 3 Monaten. In die statistische Auswertung konnten die Daten von 74 Probanden einfließen, von denen jeweils 37 der Verum- oder Placebogruppe angehörten. Beide Gruppen applizierten während des Untersuchungszeitraums täglich 10 ml eines fluiden Saftkonzentrats, wobei das Placebopräparat im Vergleich zum Verum keinerlei Wirkstoffanreicherung enthielt. Die klinischen Untersuchungen der Studienkohorte fanden im Rahmen einer Eingangs- und einer Abschlussuntersuchung an den Standorten Halle/Saale und Kassel statt.

Unter dem Aspekt einer möglichen präventiven Wirkung von B-Vitaminen gegenüber kardiovaskulären Pathologien wurden in dieser Arbeit die Plasmaspiegel der Vitamine B<sub>12</sub> und Folsäure in den Fokus gerückt. Durch das Verumpräparat wurden täglich 7,5 µg Cyanocobalamin (Vitamin B<sub>12</sub>) und 600 µg Pteroylmonoglutaminsäure (Folsäure) gemeinsam mit anderen Vitalstoffen substituiert. Zur Prüfung des klinischen Outcomes wurden an beiden Untersuchungsterminen die Plasmaspiegel des Vitamin B<sub>12</sub> und der Folsäure sowie des metabolisch abhängigen Homocysteins bestimmt. Zudem erfolgte die oszillometrische Messung verschiedener hämodynamischer Parameter.

Zu Beginn zeigten sich zwischen Verum- und Placebogruppe keinerlei statistisch signifikante Unterschiede in den untersuchten Plasmavitaminwerten. Die gesamte Studienkohorte lag bezüglich beider Vitamine im unteren Normalbereich. Durch die Substitution des Konzentrates konnte in der Verumgruppe eine signifikante Erhöhung der Vitamin B<sub>12</sub>-Plasmaspiegel um  $46,4 \pm 42,0$  pmol/l und der Folsäurewerte um  $49,9 \pm 20,0$  nmol/l erreicht werden. Innerhalb der Placebogruppe zeigten sich nahezu keine Veränderungen bezüglich der Folsäure, die Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegel sanken während der 12-wöchigen Intervention noch signifikant.

Konform erschienen die Ergebnisse der Vitamin-B-abhängigen Aminosäure Homocystein. Es

ließ sich zu beiden Untersuchungszeitpunkten eine signifikante negative Korrelation zwischen Homocystein und den B-Vitaminen nachweisen. Bei zunächst hochnormalen Plasmaspiegeln, konnte innerhalb der Verumgruppe eine signifikante Senkung der Homocysteinspiegel um  $2,4 \pm 2,4 \mu\text{mol/l}$  gezeigt werden. In der Placebogruppe sank der Spiegel lediglich um  $0,6 \pm 2,4 \mu\text{mol/l}$ .

Weniger Auswirkungen zeigte die Einnahme des Präparates in Bezug auf die untersuchten hämodynamischen Parameter. Innerhalb der Placebogruppe sank der zentrale systolische und diastolische Blutdruck signifikant um  $3,9 \pm 10,2 \text{ mmHg}$  bzw.  $2,8 \pm 4,9 \text{ mmHg}$ , während die Werte in der Verumgruppe eine geringere, nicht signifikante Tendenz zur Senkung zeigten. Die untersuchten Werte lagen zu jedem Untersuchungszeitpunkt und in jeder Gruppe nahe des als optimal geltenden Werts von 120/80 mmHg. Innerhalb der Verumgruppe war zum Ende des Interventionszeitraums eine signifikante Erhöhung des  $\text{AIx@75}$  um  $5,4 \pm 16,1 \%$  zu beobachten.

Es konnten damit nach Supplementierung des Präparates keine offensichtlich vaskuloprotektiven Veränderungen im hämodynamischen System festgestellt werden. Trotzdem erscheint aufgrund des zelltoxischen und gefäßschädigenden Potenzials des Homocysteins, dessen Plasmakonzentration durch die Intervention reduziert werden konnte, die getestete Nahrungsergänzung für gesunde Erwachsene mit B-Vitaminunterversorgung sinnvoll.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft. Nationale Verzehrsstudie II: Ergebnisbericht Teil 2. Ernährung. 2008;2:77–81.
2. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016;37:3232–45.
3. Fairfield KM, Fletcher RH. Vitamins for Chronic Disease Prevention in Adults. *JAMA*. 2002;287:3127–9.
4. Graham IM, O’Callaghan P. The role of folic acid in the prevention of cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*. 2000;11:577–87.
5. Tak YJ, Lee JG, Kim YJ, Lee SY, Cho BM. 25-hydroxyvitamin D and its relationship with autonomic dysfunction using time- and frequency-domain parameters of heart rate variability in Korean populations: a cross-sectional study. *Nutrients*. 2014;6:4373–88.
6. Wilkins CH, Sheline YI, Roe CM, Birge SJ, Morris JC. Vitamin D deficiency is associated with low mood and worse cognitive performance in older adults. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2006;14:1032–40.
7. Lampe JW. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr*. 1999;475S-90S.
8. BLL - Bund für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde e.V. Vitamin C und Magnesium sind die beliebtesten Nahrungsergänzungsmittel. 2016. <https://www.presseportal.de/pm/12796/3474980>. Zuletzt geprüft am 01.06.2019.
9. Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft. Verordnung über Nahrungsergänzungsmittel (Nahrungsergänzungsmittelverordnung - NemV): NemV; 24.05.2004, S.3.
10. Ebermann R, Elmadfa I. Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung. 2. Aufl. Vienna: Springer-Verlag Vienna; 2011, S.179-183.
11. Obeid R, Fedosov SN, Nexo E. Cobalamin coenzyme forms are not likely to be superior to cyanocobalamin and hydroxyl-cobalamin in prevention or treatment of cobalamin deficiency. *Mol Nutr Food Res*. 2015;59:1364–72.
12. Rotter D. Vitamin B12 Formen. 2018. <http://www.vitaminb12.de/formen/>. Zuletzt geprüft am 01.06.2019.
13. DGE. Neuer Referenzwert für die Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr. 2019. <https://www.dge.de/presse/pm/neuer-referenzwert-fuer-die-vitamin-b12-zufuhr/>. Zuletzt geprüft am 01.06.2019.
14. Europäisches Parlament, Rat der Europäischen Union. Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 25. Oktober 2011 betreffend die Information der Verbraucher über Lebensmittel und zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 1924/2006 und (EG) Nr. 1925/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Aufhebung der Richtlinie 87/250/EWG der Kommission, der Richtlinie 90/496/EWG des Rates, der Richtlinie 1999/10/EG der Kommission, der Richtlinie 2000/13/EG des Europäischen Parlaments und des Rates, der Richtlinien 2002/67/EG und 2008/5/EG der Kommission und der Verordnung (EG) Nr. 608/2004 der Kommission Text von Bedeutung für den EWR: Nr. 1169/2011; 25.10.2011, S.46.

15. EFSA. Overview on Tolerable Upper Intake Levels as derived by the Scientific Committee on Food (SCF) and the EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). 2018. [https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/assets/UL\\_Summary\\_tables.pdf](https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/assets/UL_Summary_tables.pdf). Zuletzt geprüft am 01.06.2019.
16. Rotter D. Vitamin B12 Lebensmittel. 2018. <http://www.vitaminb12.de/lebensmittel/>. Zuletzt geprüft am 03.06.2019.
17. Herrmann W, Obeid R. Causes and early diagnosis of vitamin B12 deficiency. *Dtsch Arztebl Int.* 2008;105:680–5.
18. Rotter D. Vitamin-B12-Mangel: Symptome. 2018. <http://www.vitaminb12.de/mangel/symptome/>. Zuletzt geprüft am 03.06.2019.
19. DocMedicus Verlag GmbH & Co. KG. Vitamin B-Komplex | Folsäure (Folat) | DocMedicus Vitalstofflexikon. 2018. <http://www.vitalstofflexikon.de/index.php?PHPSESSID=1n0rhqkmve14lum7ea944f6cl1&subcatid=446&mode=listarticles&activeMenuNr=3&maincategory=169&maincatid=169&tableExt=-1&menuSet=1&>. Zuletzt geprüft am 01.06.2019.
20. DocMedicus Verlag GmbH & Co. KG. Lebensmittel | DocMedicus Vitalstofflexikon. 2018. <http://www.vitalstofflexikon.de/index.php?PHPSESSID=1n0rhqkmve14lum7ea944f6cl1&activeMenuNr=3&menuSet=1&maincatid=169&subcatid=446&mode=showarticle&artid=177&arttitle=Lebensmittel&>. Zuletzt geprüft am 01.06.2019.
21. Galukande M, Jombwe J, Fualal J, Baingana R, Gakwaya A. Reference values for Serum levels of Folic acid and Vitamin B12 in a young adult Ugandan population. *African Health Science.* 2011;240–3.
22. Schmidt J. Häufigkeit, Ursachen und Risikogruppen des Vitamin B12-Mangels. 2011.
23. Zhou J, Austin RC. Contributions of hyperhomocysteinemia to atherosclerosis: Causal relationship and potential mechanisms. *Biofactors.* 2009;35:120–9.
24. Stanger O, Dierkes J, Fowler B, Geisel J, Herrmann W, Pietrzik K, Weger M. Konsensuspapier der D.A.CH.-Liga Homocystein über den rationellen klinischen Umgang mit Homocystein, Folsäure und B-Vitaminen bei kardiovaskulären und thrombotischen Erkrankungen - Richtlinien und Empfehlungen. *Journal für Kardiologie.* 2003:190–9.
25. Weber T. Grundlagen: Zentraler Blutdruck, Pulswellenreflexion, Pulswellengeschwindigkeit. *Journal für Hypertonie - Austrian Journal of Hypertension.* 2010:9–13.
26. Robert Koch-Institut. Gesundheitsberichterstattung des Bundes: Hypertonie. 2008.
27. Weber T, Eber B, Zweiker R, Horn S, Sock S, Grüner P, et al. Pulswellengeschwindigkeit, zentraler Blutdruck und Augmentationsindex - "neue" Parameter zur Beschreibung eines Endorganschadens der arteriellen Strombahn bei Hypertonie. *Pathophysiologie, Methodik, prognostische Bedeutung, Empfehlungen. Journal für Hypertonie - Austrian Journal of Hypertension.* 2008:7–13.
28. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The task force for the management of arterial hypertension of the european society of hypertension (ESH) and of the european society of cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2013;34:2159–219.

29. I.E.M. GmbH. Bedienungsanleitung: Ambulantes 24 Stunden Blutdruck-Monitor-System MOBIOLOGRAPH. 2015.
30. Baulmann J, Weber T, Mortensen K. Messmethoden der Arteriellen Gefäßsteifigkeit. *Journal für Hypertonie - Austrian Journal of Hypertension*. 2010;18–24.
31. Grillo A, Parati G, Rovina M, Moretti F, Salvi L, Gao L, et al. Short-Term Repeatability of Noninvasive Aortic Pulse Wave Velocity Assessment: Comparison Between Methods and Devices. *Am J Hypertens*. 2017;31:80–8.
32. Hametner B, Wassertheurer S, Kropf J, Mayer C, Eber B, Weber T. Oscillometric estimation of aortic pulse wave velocity: Comparison with intra-aortic catheter measurements. *Blood Press Monit*. 2013;18:173–6.
33. Weiss W, Gohlisch C, Harsch-Gladisch C, Tölle M, Zidek W, van der Giet M. Oscillometric estimation of central blood pressure: validation of the Mobil-O-Graph in comparison with the SphygmoCor device. *Blood Press Monit*. 2012;17:128–31.
34. Steffel J, Lüscher TF. *Herz-Kreislauf*. 2. Aufl. Berlin: Springer; 2014, S.209.
35. McCully KS. Vascular Pathology of Homocysteinemia: Implications for the Pathogenesis of Arteriosclerosis. *The American journal of pathology*. 1969;56:111–28.
36. Lai WKC, Kan MY. Homocysteine-Induced Endothelial Dysfunction. *Ann Nutr Metab*. 2015;67:1–12.
37. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J*. 2015;14:6.
38. Pang X, Liu J, Zhao J, Mao J, Zhang X, Feng L, et al. Homocysteine induces the expression of C-reactive protein via NMDAr-ROS-MAPK-NF- $\kappa$ B signal pathway in rat vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 2014;236:73–81.
39. Løland KH, Bleie O, Blix AJ, Strand E, Ueland PM, Refsum H, et al. Effect of homocysteine-lowering B vitamin treatment on angiographic progression of coronary artery disease: a Western Norway B Vitamin Intervention Trial (WENBIT) substudy. *Am J Cardiol*. 2010;105:1577–84.
40. Roche. Homocysteine Enzymatic. 2014.  
[http://www.roche-diagnostics.ch/content/dam/corporate/roche-dia\\_ch/documents/broschueren/professional\\_diagnostics/serumarbeitsplatz/klinische\\_chemie/04Spezifische-proteine/07262566001\\_DE\\_EA\\_Homocysteine\\_Factsheet.pdf](http://www.roche-diagnostics.ch/content/dam/corporate/roche-dia_ch/documents/broschueren/professional_diagnostics/serumarbeitsplatz/klinische_chemie/04Spezifische-proteine/07262566001_DE_EA_Homocysteine_Factsheet.pdf). Zuletzt geprüft am 03.06.2019.
41. Roche. Elecsys Folate III. 2016.  
[https://www.roche.de/res/content/7858/folate\\_iii\\_restandardisiert\\_factsheet.pdf](https://www.roche.de/res/content/7858/folate_iii_restandardisiert_factsheet.pdf). Zuletzt geprüft am 03.06.2019.
42. Roche. Elecsys Active B12 (holoTC). 2017.  
[http://www.roche-diagnostics.ch/content/dam/corporate/roche-dia\\_ch/documents/broschueren/professional\\_diagnostics/serumarbeitsplatz/immunologie/anamie/DE\\_Vitamin\\_b-12-Testbeschreibung\\_III.pdf](http://www.roche-diagnostics.ch/content/dam/corporate/roche-dia_ch/documents/broschueren/professional_diagnostics/serumarbeitsplatz/immunologie/anamie/DE_Vitamin_b-12-Testbeschreibung_III.pdf). Zuletzt geprüft am 03.06.2019.
43. White DJ, Cox KHM, Peters R, Pipingas A, Scholey AB. Effects of Four-Week Supplementation with a Multi-Vitamin/Mineral Preparation on Mood and Blood Biomarkers in Young Adults: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Nutrients*. 2015;7:9005–17.

44. Laborärztliche Arbeitsgemeinschaft für Diagnostik und Rationalisierung e. V. Diagnostik des Vitamin-B12-Mangels: Bedeutung des Holo-Transcobalamins für die Früherkennung. LADR informiert. 2016.
45. Muss C, Mosgoeller W, Endler T. Bioavailability of a liquid Vitamin Trace Element Composition in healthy volunteers. *Neuro Endocrinol Lett.* 2015;36:337–47.
46. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: An expert opinion. *Clin Chem.* 2004;50:3–32.
47. Jennifer A. McMahon, Ph.D., Timothy J. Green, Ph.D., C. Murray Skeaff, Ph.D., Robert G. Knight, Ph.D., Jim I. Mann, Ph.D., and Sheila M. Williams, D.Sc. A Controlled Trial of Homocysteine Lowering and Cognitive Performance. 2006.
48. Mengden T, Hausberg M, Heiss C, Mitchell A, Nixdorff U, Ott C, et al. Arterielle Gefäßsteifigkeit – Ursachen und Konsequenzen. *Kardiologe.* 2016;10:38–46.
49. Nath RP, Upton RA, Everhart ET, Cheung P, Shwonek P, Jones RT, Mendelson JE. Buprenorphine pharmacokinetics: relative bioavailability of sublingual tablet and liquid formulations. *J Clin Pharmacol.* 1999;39:619–23.
50. Herrmann W. The importance of hyperhomocysteinemia as a risk factor for diseases: an overview. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39:666–74.
51. Fares A. Winter Hypertension: Potential mechanisms. *International Journal of Health Sciences.* 2013:210–9.
52. van Dijk SC, Enneman AW, Swart KMA, van Wijngaarden JP, Ham AC, Brouwer-Brolsma EM, et al. Effects of 2-year vitamin B12 and folic acid supplementation in hyperhomocysteinemic elderly on arterial stiffness and cardiovascular outcomes within the B-PROOF trial. *J Hypertens.* 2015;33:1897-906; discussion 1906.
53. Montalescot G. Homocysteine: the new player in the field of coronary risk. *Heart.* 1996.
54. Joseph J, Joseph L, Shekhawat NS, Devi S, Wang J, Melchert RB, et al. Hyperhomocysteinemia leads to pathological ventricular hypertrophy in normotensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H679-86.
55. Fowler B. Homocystein als kardiovaskulärer Risikofaktor. *Kardiovaskuläre Medizin.* 2004:71–7.
56. Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D, Dayer M. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;8:CD006612.
57. Deris I. Hyperhomocysteinämie: Vitaminsubstitution wird empfohlen. *Deutsches Ärzteblatt.* 2001;98.

## 8. Thesen

1. **Viele subjektiv gesunde Erwachsene sind bezüglich Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure unterversorgt.** Dies zeigen Vitaminserumspiegel im unteren Grenz- oder Mangelbereich, in Kombination mit häufig vorliegenden Hyperhomocysteinämien.
2. **In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung des fluiden Vitalstoffkonzentrates „Myeniola“ im direkten Vergleich mit einem Placebopräparat über 12 Wochen getestet.** Wir initiierten eine randomisierte, placebokontrollierte, doppelblinde Interventionsstudie. Dies entspricht dem Goldstandard der Testung.
3. **„Myeniola“ ist geeignet, um subklinische Defizite in der Versorgung mit Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure bei gesunden Erwachsenen innerhalb von 12 Wochen deutlich zu reduzieren.** Innerhalb der Verumgruppe konnte ein deutlicher Anstieg der Vitamine im Vergleich zur Placebogruppe beobachtet werden. Die enthaltenen 7,5 µg Cyanocobalamin (Vitamin B<sub>12</sub>) und 600 µg Pteroylmonoglutaminsäure (Folsäure) zeigen eine gute Bioverfügbarkeit.
4. **Durch die Einnahme von „Myeniola“ können erhöhte Homocysteinplasmaspiegel innerhalb von 12 Wochen reduziert werden.** Die Erhöhung der für den Organismus verfügbaren B-Vitamine bringt eine Senkung des Homocysteinspiegels, aufgrund des abhängigen Metabolismus, mit sich.
5. **Gesunde Erwachsene mit subklinischer Hyperhomocysteinämie profitieren von einer Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäuresubstitution.** Bei nachgewiesen gefäßschädigendem Potenzial des Homocysteins ist eine Vitamin-B-induzierte Senkung sinnvoll.
6. **Die 12-wöchige Interventionsstudie reicht nicht aus, um klare Aussagen über eine positive oder negative Wirkung der Intervention bezüglich der Prävention kardiovaskulärer Pathologien zu treffen.** Es konnten keine signifikanten Änderungen von hämodynamischen Parametern eruiert werden, die offensichtlich für eine protektive Funktion der Vitamin-B-Supplementierung sprechen. Ein weiteres Follow-up sowie entsprechende Kontrollen und Optimierungen der B-Vitaminspiegel im Blut über einen größeren Zeitraum wären für entsprechende Ergebnisse notwendig.

## 9. Anlagen

### 9.1 Newsletter der Firma Eismann

Wir unterstützen die **Universität Halle/Wittenberg**. - Die E-Mail wird nicht korrekt angezeigt?

Klicken Sie [hier](#).



Hallo (Probandenname),

als Firma eismann sind wir stolz auf die hohe Qualität unserer Produkte, aus denen wir unseren Kunden eine Vielzahl von Lebensmitteln für eine gesunde Ernährung bieten.

Trotz gutem Ernährungsverhalten treten allerdings **häufig unbemerkt Mangelsituationen** auf. Nur als kleines Beispiel: Wussten Sie, dass schätzungsweise mehr als 80 % der deutschen Bevölkerung an einem Mangel des Sonnenvitamins D leiden?

#### **Neues Vitalstoffkonzentrat**

Um möglichen Mangelsituationen entgegen zu treten, unterstützen wir eine **Studie des Instituts für Leistungsdiagnostik und Gesundheitsförderung (ILUG)** an der Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg. Dieses Institut testet die Wirkungsweise eines **natürlichen Vitalstoffkonzentrats** und überprüft, ob Lücken der Ernährung und in der Versorgung mit Vitalstoffen geschlossen werden können.

### \* Ihre Chance

Sie wurden ausgewählt und haben die Chance, dieses neue Produkt **exklusiv testen zu dürfen**. Die Studie findet in Halle und Kassel statt und wir freuen uns, Sie als Unterstützer begrüßen zu dürfen.

### Ihr Dankeschön

Als Dankeschön für Ihre Teilnahme erhalten Sie weiterhin nach Abschluss der Studie ein **Überraschungspaket der Firma eismann mit hochwertigen Lebensmitteln im Wert von ca. 50 €**.

Alle **weiteren Informationen zur Studie** und ein Anmeldeformular finden Sie weiter unten sowie auf der Seite des [ILUG](#).

Vielen Dank für Ihre Unterstützung.

Viele Grüße

**Das Team von eismann** und dem **ILUG**

Der Newsletter wurde von eismann an ([Probanden-Mail](#)) gesendet. Wenn Sie den Newsletter nicht mehr erhalten möchten, klicken Sie [hier](#).



Tiefkühl-Heimservice GmbH

Seibelstraße 36

D-40822 Mettmann

Telefon: +49 (2104) 219-0

Telefax: +49 (2104) 219-851

E-Mail: [service@eismann.de](mailto:service@eismann.de)

Internet: [www.eismann.de](http://www.eismann.de)

### Schon gesehen?



### Ausgezeichnet



[Impressum](#) | [Datenschutz](#) | [AGB](#) | [Kontakt](#)

© eismann 2017

## 9.2 E-Mail zur Eingangsuntersuchung

Liebe/r Studienteilnehmer/in,

wir freuen uns, dass Sie an der „Vitalstoffstudie“ teilnehmen.

Im Anhang senden wir Ihnen eine ausführliche **Probandeninformation**. Bitte lesen Sie diese sorgfältig durch. Sollte etwas unklar sein oder Sie Fragen haben, so können wir diese gern zum Eingangstermin besprechen.

In der **Wegbeschreibung** finden Sie die genaue Anschrift des Untersuchungsortes.

Weiterhin finden Sie im Anhang ein **Ernährungstagebuch**. Füllen Sie dieses **3 Tage vor Ihrem Termin** aus. Ändern Sie nicht Ihre Ernährungsgewohnheiten und notieren Sie alles was Sie gegessen und getrunken haben. Sollten Sie keine Möglichkeit haben, das Esstagebuch auszudrucken, so genügt uns auch eine handschriftliche Dokumentation entsprechend der Vorlage. Sollte sich die Protokollierung mit Ihrem Termin überschneiden, so können Sie das Esstagebuch auch gern entsprechend später per Mail zusenden.

Bitte zum Termin **nüchtern** (vorher nichts essen – Wasser und ungesüßte Tees sind erlaubt) und **gesund** sein.

Ihr Eingangstermin findet am (Untersuchungstermin) statt.

Freundliche Grüße,

Ihr Studienteam des ILUG`s

### 9.3 Probandeninformation

## **PROBANDENINFORMATION (Version 1.1)**

### **Studie zum Einfluss der Einnahme eines Vitalstoffkonzentrats über 12 Wochen auf Lebensqualität und Stimmung sowie gesundheitsrelevante Vital- und Blutparameter und das Immunsystem.**

#### **Wer kann an der Studie teilnehmen?**

Teilnehmen können berufstätige gesunde Frauen und Männer im Alter von 30 bis 60 Jahren, die das Ziel haben, ihren Gesundheits- und Leistungszustand mithilfe eines Vitalstoffkonzentrats zu optimieren. Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig und kann jederzeit ohne Angabe von Gründen beendet werden. Dabei entstehen Ihnen keinerlei Nachteile.

#### **Was ist das Ziel der Studie?**

Ziel der Studie ist die Evaluierung des Einflusses eines Vitalstoffkonzentrats auf die Lebensqualität, Stimmung, Stresswahrnehmung, wichtige Vital- und Blutparameter sowie auch auf das Immunsystem. Mit dieser Interventionsstudie sollen auch neue Erkenntnisse für die Ernährungswissenschaft hinsichtlich des Nutzens von Multivitaminpräparaten als Nahrungsergänzungsmittel gewonnen werden.

#### **Wo und wie läuft die Studie ab?**

Zunächst erfolgt im Rahmen der Studie ein medizinisches Screening, d.h., nach der Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien erfolgen Messungen von Körpergröße und -gewicht, Blutdruck, Pulswellengeschwindigkeit und Herzfrequenzvariabilität sowie eine venöse Blutentnahme. Mithilfe dieser Probe werden die Spiegel von Vitamin B12, Folsäure, Vitamin D, Homocystein und HbA1c bestimmt. Zusätzlich werden die Teilnehmer gebeten, drei kurze Fragebögen zu Stresswahrnehmung, Stimmung und Lebensqualität auszufüllen. Die Untersuchung wird vom Institut für Leistungsdiagnostik und Gesundheitsförderung in Zusammenarbeit mit dem Institut für Sportwissenschaft der Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg durchgeführt. Untersuchungsorte sind Halle (Saale) und Kassel. Für die Teilnehmer aus dem Raum Kassel finden Untersuchungen und venösen Blutabnahmen in der kardiologischen Gemeinschaftspraxis Dr. Frank Jäger, Wilhelmshöher Allee 5, Kassel und für die Teilnehmer aus dem Raum Halle/Leipzig am Institut für Sportwissenschaft, Von-Seckendorff-Platz 2, Halle (Saale) statt. Die Dauer der Untersuchungen beträgt pro Person ca. 45 Minuten. Im anschließenden 12wöchigen Interventionszeitraum wird das Konzentrat oder ein nicht unterscheidbares Placebo-Präparat einmal täglich eingenommen. Begleitend zur Einnahme werden die Teilnehmer gebeten in einer Art Krankheitstagebuch gesundheitliche Beeinträchtigungen wie Infekte, Erkältungen, sonstige Erkrankungen oder Unwohlsein im Interventionszeitraum einzutragen. Nach 12 Wochen werden die Eingangsuntersuchungen wiederholt. Die Einnahme des

Konzentrates erfolgt im Doppelblind-Versuch, das heißt, wir als Studienleiter und Sie als Teilnehmer/in wissen nicht, ob Sie das Verum- oder Placebo-Präparat erhalten.

### **Was sollte ich zusätzlich beachten?**

Während und mindestens 4 Wochen vor dem Studienzeitraum ist die zusätzliche Einnahme von Vitaminsupplementen nicht gestattet. Ebenfalls sollte während der Studie kein Urlaub in Ländern südlicher als Deutschland eingeplant sein. Drei Tage vor der Ausgangs- und Abschlussuntersuchung soll ein Ernährungstagebuch ausgefüllt werden. Sollten Sie Medikamente einnehmen, bitten wir Sie uns Veränderungen in Bezug auf die Präparate oder auch Dosierung mitzuteilen. Der Abstand zwischen Einnahme Ihrer Medikamente und des von uns ausgehändigten Konzentrats sollte mind. 2 Stunden betragen.

### **Was habe ich für Vorteile, wenn ich an der Studie teilnehme?**

Jeder Teilnehmer erhält einen umfassenden Befund zu den erhobenen Körperdaten und dem gesundheitlichen Status, vor allem auch in Bezug auf den in Deutschland häufigen, oft unerkannten Mangel an Folsäure, Vitamin-B12 und Vitamin-D. Zusätzlich erhalten Sie nach Abschluss der Studie ein Überraschungspaket gefüllt mit Lebensmitteln von der Firma Eismann im Wert von mindestens 50 EUR.

### **Welche Risiken ergeben sich durch die Untersuchungen?**

Blutentnahme an der Kubitalvene: Im Rahmen der Studie sind insgesamt zwei venöse Blutentnahmen in der Oberarmbeuge vorgesehen. Durch die Punktion kann es zu einer leichten Traumatisierung der Einstichstelle mit Blutergüssen und Befindlichkeitsstörungen kommen. Die tägliche Einnahme des Vitalstoffkonzentrats stellt für gesunde Menschen in der empfohlenen Menge kein Risiko dar. Das gesundheitliche Risiko ist als äußerst gering einzuschätzen.

### **Was geschieht mit den Ergebnissen / Daten?**

Die erhobenen Daten werden im Computer gespeichert und wissenschaftlich ausgewertet. Für die Auswertung werden die personenbezogenen Daten (Name, Adresse) von den Untersuchungsdaten getrennt. Die Untersuchungsergebnisse und Fragebogenangaben werden so ohne Bezug zu den personenbezogenen Daten (pseudonym) ausgewertet.

### **Was ist mit dem Datenschutz?**

Alle Daten werden streng vertraulich behandelt und nur zu dem angegebenen Forschungszweck verwendet. Alle Studienmitarbeiter, die mit Ihren Daten umgehen, werden auf die Datenschutzvorschriften der Datenschutzgesetze verpflichtet und unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht. Die Daten werden nur in pseudonymisierter Form (getrennt von personenbezogenen Daten) ausgewertet. Dazu werden die Namen der Probanden durch eine mehrstellige Zahlen- und Buchstabenkombination (Code) ersetzt, um die Identifizierung der Probanden durch Dritte unkenntlich zu machen. Nur die beteiligten Wissenschaftler haben Kenntnis über die Pseudonymisierung und können dementsprechend die Daten den jeweiligen Probanden zuordnen. Es erfolgt keine

Weitergabe personenbezogener Daten an Dritte. Eine Nutzung Ihrer Daten für kommerzielle Zwecke ist ausgeschlossen. Ihre Daten unterliegen also dem Datenschutz!

**Wie sind Sie während der Studie versichert?**

Es besteht für Untersuchungen eine Haftpflicht-Versicherung bei der Allianz-Versicherung unter der Versicherungsnummer GHA 10/0406/2596129/110.22

**Mittelgeber**

Die Durchführung der Studie wird finanziell durch die Firma eismann GmbH, Mettmann unterstützt.

**An wen wende ich mich, wenn ich Fragen zur Studie habe?**

Ernährungswissenschaftler Marco Spielau

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Institut für Leistungsdiagnostik und Gesundheitsförderung (ILUG)

Mail: [spielau@ilug.uni-halle.de](mailto:spielau@ilug.uni-halle.de)

Telefon: 0345-5524416

Mobil: 01774708623

**Vertraulichkeit der Untersuchungsergebnisse**

Die Daten werden aufgezeichnet und pseudonym ausgewertet. Alle bei der Aufzeichnung oder Auswertung der Daten beteiligten Personen sind zu strenger Vertraulichkeit und Beachtung des Datenschutzes verpflichtet. Die Teilnahme an der o.g. Studie ist vollkommen freiwillig und Sie können Ihr Einverständnis jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen. Im Falle eines Widerrufs des Einverständnisses der Teilnahme werden alle erhobenen Daten gelöscht.

**Wir danken allen Probanden für die Teilnahme an dieser Studie.**

**Anmerkungen zum Dokumentationsgespräch:**

## 9.4 Ernährungsprotokoll

# Ernährungsprotokoll

**(bitte 3 Tage vor Studienbeginn ausfüllen und zum Termin mitbringen!)**

Name \_\_\_\_\_ Vorname \_\_\_\_\_  
Straße/Nr. \_\_\_\_\_  
PLZ \_\_\_\_\_ Ort \_\_\_\_\_  
Tel \_\_\_\_\_ Email \_\_\_\_\_  
Geb. am \_\_\_\_\_ Geschlecht  weiblich  Männlich  
Größe (cm) \_\_\_\_\_ Gewicht (kg) \_\_\_\_\_

Sonstiges (Krankheiten/Allergien/Nahrungsmittelunverträglichkeiten):

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Berufliche Tätigkeit (bitte ankreuzen):

- Leichte Arbeit (vorwiegend sitzende Tätigkeit, z.B. Sekretär/in)  
 Mittelschwere Arbeit (vorwiegend körperliche Tätigkeit, z.B. Postbote/in)  
 Schwere Arbeit (harte körperliche Tätigkeit, z.B. Maurer/in)

Sportliche Aktivität:

Sportart: \_\_\_\_\_ durchschnittliche Stunden/Woche: \_\_\_\_\_  
Sportart: \_\_\_\_\_ durchschnittliche Stunden/Woche: \_\_\_\_\_

### Hinweise zum Ausfüllen und Führen des Ernährungsprotokolls

Bitte tragen Sie auf jeder Seite Datum und Wochentag ein.

Füllen Sie bitte 3 Wochentage aus

Notieren Sie **ALLES**, was sie gegessen haben, auch Snacks zwischendurch – Ihre Ehrlichkeit ist besonders wichtig, um das Ernährungsprotokoll exakt auswerten zu können.

Ändern Sie nicht Ihre Ernährungsgewohnheiten.

Wenn Sie die Möglichkeit haben, wiegen Sie die Zutaten, ansonsten können Sie die Zutaten auch mit üblichen Portionsgrößen abschätzen (Esslöffel gestrichen/gehäuft, Scheibe,...), im Anhang finden Sie einige Beispiele, um die Menge entsprechend einschätzen zu können.

Bei Markenprodukten bitte die Firma angeben.

Wenn Sie Speisen selbst zubereiten, dann notieren Sie alle Zutaten.

Vergessen Sie nicht die **GETRÄNKE** zu vermerken (z.B. Cola light, Saft, Fruchtsaft, Fruchtnektar, beachten Sie aufmerksam die Angaben auf der Verpackung).

Nehmen Sie das Ernährungsprotokoll wenn möglich überall mit hin, damit Sie **sofort** die aufgenommen Speisen notieren können.

Vielen Dank!

Beispieltag\*:

Datum: 05.05.2014

Wochentag: Montag

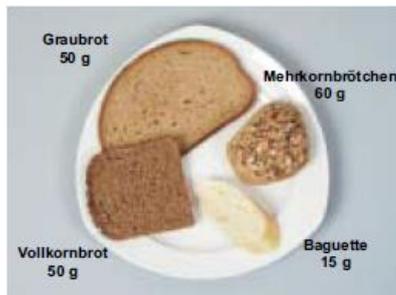
Zeit	Ort, wo die Mahlzeit aufgenommen wurde	Menge/Portion	Speisen und Getränke
7:00	Zu Hause	½ 2 kleine 1 kleines eine Hälfte mit eine Hälfte mit ein großes Schälchen mit 150 ml 1 kleine Tasse 2 Stück ein Spritzer	Weißes Brötchen mit Butter Scheiben Salami Vollkornbrötchen mit Margarine Nuss-Nougat Creme Honig Cornflakes (Fruit Loops, Firma XY) Milch (3,5 % Fett) Kaffee Würfelzucker Kondensmilch (7,5 % Fett)
9:15	Auf Arbeit	500 ml 1 großen 1 Becher (125 g)	Wasser mit Kohlensäure (Firma XY) Apfel Joghurt (1,5 % Fett, Erdbeere, Firma XY)
12:30	Kantine	3 mittelgroße 4 Esslöffel 1 2 kleine Kellen 1 kleines Schälchen 1 großes Glas	Kartoffeln Rotkohl Hähnchenschenkel Braune Soße Vanillepudding Orangennektar
15:00	Im Park	2 große Kugeln 200 ml	Kugeln Schokoeis in einer Waffel Orangenlimonade (Firma XY)
17:30	Zu Hause	2 kleine Scheiben ½ Scheibe 1 Portion 2 große Tassen	Mischbrot mit Margarine Emmentaler Käse (45 % Fett i. Tr.) Frischkäse mit Kräuter (Firma XY, 18 % Fett) Kräuteree ohne Zucker

		1 große Schale  4 Esslöffel 2 Teelöffel Prise	Gemischter Salat (Eisberg, Radieschen, Paprika, Tomate) mit Joghurtdressing: (Olivenöl, Petersilie, Salz und Pfeffer)
20:00	Bei Freunden	1 handvoll (30 g) 2 Weingläser 1 Schnapsglas	Paprikachips trockenen Rotwein Kräuterschnaps

\*beispielhaft ausgefüllter Tag; die Patienten erhielten für jeden auszufüllenden Tag ein leeres Protokoll

### Beispiele zur Einschätzung der Portionsgrößen

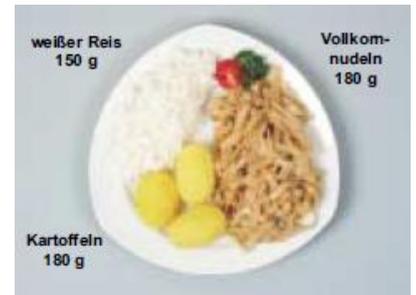
Brotstücken



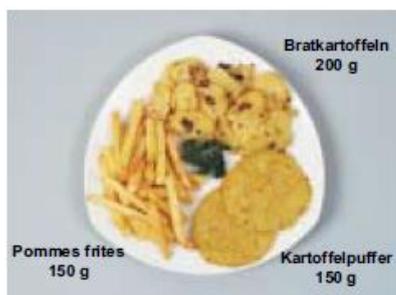
ein Stück Kuchen



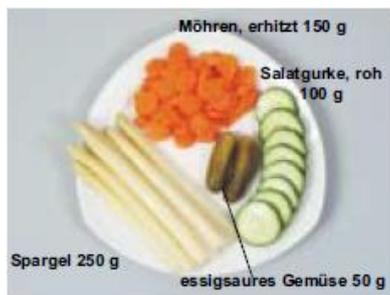
Reis, Nudeln und Kartoffeln



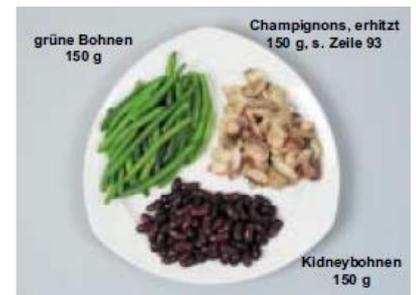
Pommes frites und Bratkartoffeln



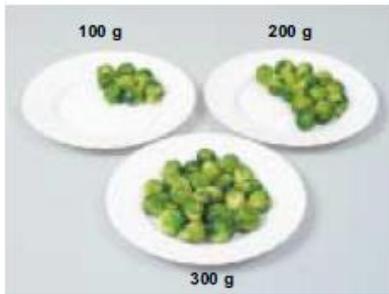
Portion Gemüse



Portion Bohnen



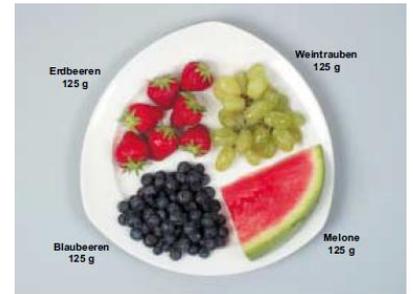
Rosenkohl, erhitzt



Rotkohl, erhitzt



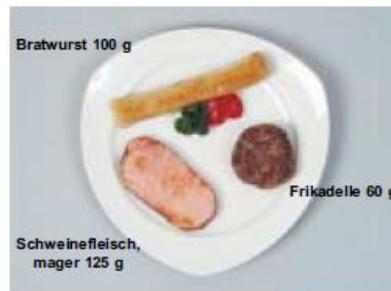
Portion Obst



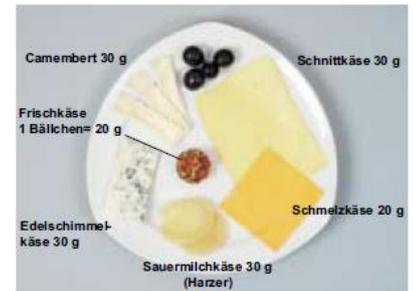
Portion Wurst



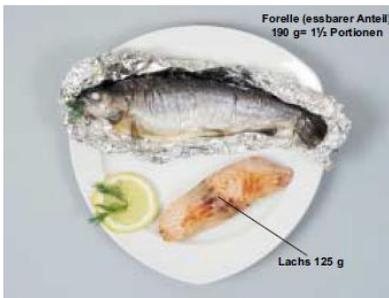
Portion Fleisch



Portion Käse



Portion Fisch



Portion Süßigkeiten



Portion Knabbereien



Abbildungen angelehnt an DIFE,

## 9.5 Messdatenblatt

### MESSDATENBLATT

Prob.nr.: **ES** – \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_

Größe: \_\_\_\_\_ m      Geschlecht:  m     w

---

#### **BIA-Messung:**

Körpergewicht [kg]: \_\_\_\_\_

Gesamtkörperfett [%]: \_\_\_\_\_

Fettfreie Masse [kg]: \_\_\_\_\_

Körperwasser [%]: \_\_\_\_\_

Viszeralfett: \_\_\_\_\_

Knochenmasse [kg]: \_\_\_\_\_

Grundumsatz [kcal]: \_\_\_\_\_

#### **Herz-Stress-Test-Messung:**

Zustand: \_\_\_\_\_

Stress [%]: \_\_\_\_\_

Puls [S/min]: \_\_\_\_\_

SDNN [ms]: \_\_\_\_\_

pNN50 [%]: \_\_\_\_\_

HF [%]: \_\_\_\_\_

LF [%]: \_\_\_\_\_

#### **Pulswellengeschwindigkeit (Messung links):**

Umfang OA [cm]: \_\_\_\_\_

Manschettengröße:     S     M     L

Raucher:     ja       nein

Systole [mmHg]: \_\_\_\_\_

Diastole [mmHg]: \_\_\_\_\_

Pulsdruck [mmHg]: \_\_\_\_\_

HF [1/min]: \_\_\_\_\_

PWV [m/s]: \_\_\_\_\_

Augmentationsdruck [mmHg]: \_\_\_\_\_

Messperson: \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_ Uhrzeit: \_\_\_\_\_

9.6 Probandenauswertung

**Ihre Auswertung im Rahmen der Vitalstoffstudie**

Probandenname und -nummer

**Blutparameter**

Vitamin D [nmol/l]	Vitamin B <sub>12</sub> [pmol/l]	Folsäure [nmol/l]	Homocystein [μmol/l]	HbA1c [mmol/mol]
-----------------------	-------------------------------------	----------------------	-------------------------	---------------------

Referenzwerte

> 75	145 - 569	8,83 – 60,80	< 12	29,0 - 42,0
------	-----------	--------------	------	-------------

Eingangsuntersuchung

--	--	--	--	--

Ausgangsuntersuchung

--	--	--	--	--

**Vitalparameter**

Herzzustand	Stress [%]	Herzfrequenz [1/min]	Blutdruck [mmHg]	Pulswellen- geschwindigkeit [m/s]
-------------	---------------	-------------------------	---------------------	---

Referenzwerte

4,9 – 4,1	< 17	50 – 70	*s. Erklärungen	4 – 7
-----------	------	---------	--------------------	-------

Eingangsuntersuchung

--	--	--	--	--

Ausgangsuntersuchung

--	--	--	--	--

## Erklärungen

### **Vitamin D**

- kann vom menschlichen Körper selbst in der Haut gebildet werden (Sonnenexposition!)
- zum Mangel kommt es daher oft in den Wintermonaten und bei Menschen, die sich wenig oder gar nicht im Freien aufhalten
- geringe Mengen Vitamin D können auch über die Nahrung aufgenommen werden z.B. über Fisch, Fleisch, Innereien, Eier, Käse und Butter, Champignons oder Avocados
- inzwischen gilt für unsere Breitengrade eine Supplementierung in den Wintermonaten (etwa 20µg/Tag) als empfehlenswert

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

- Vitamin B<sub>12</sub> findet sich fast ausschließlich in tierischen Lebensmitteln
- Risikogruppen für einen Mangel sind daher v.a. Vegetarier und Veganer
- allerdings kann auch der Mangel des sogenannten Intrinsic Factors (notwendig für die B<sub>12</sub> Resorption im Darm) eine Rolle spielen
- Vitamin B<sub>12</sub> ist beteiligt an der Blutbildung, schützt das Herz-Kreislauf- und Nervensystem
- es wird sehr gut in Leber und Muskulatur gespeichert → daher kann sich ein Mangel auch erst nach vielen Jahren bemerkbar machen

### **Folsäure**

- große Vorkommen an Folsäure finden sich in grünem Blatt- und Kohlgemüse, Kräutern, Auberginen, Nüssen und Hülsenfrüchten
- Folsäure ist an der Bildung der Erbsubstanz (DNA) und damit auch an Zellteilung, Wachstums- und Heilungsprozessen beteiligt
- Überdosierungen sind beim gesunden Menschen nicht gefährlich, da überschüssige Folsäure, ähnlich wie die meisten anderen Vitamine auch, vom Körper einfach wieder ausgeschieden wird

### **Homocystein**

- Homocystein ist eine Aminosäure, welche im Proteinstoffwechsel des Körpers entsteht und zellschädigende Wirkung hat
- normalerweise wird es schnell mithilfe von Folsäure, Vitamin B<sub>6</sub> und B<sub>12</sub> abgebaut und somit unschädlich gemacht
- im Falle eines Mangels der genannten Vitamine, kann sich Homocystein im Körper anreichern und zu Verengungen der Blutgefäße führen (Arteriosklerose), dadurch steigt u.a. das Risiko für Schlaganfälle und Herzinfarkte erheblich an

### **HbA1c**

- bezeichnet die verzuckerte Form des roten Blutfarbstoffs Hämoglobin und gibt Aufschluss über die Blutzuckerkonzentration der letzten 8-12 Wochen → „Langzeit-Blutzucker“
- ein stark erhöhter HbA1c kann auf Diabetes mellitus hinweisen bzw. eine Entstehung begünstigen, auch dauerhaft leicht erhöhte Werte können schädigende Wirkung v.a. auf das Herz-Kreislauf-System haben

## Herzzustand

- stellt einen vereinfachten Gesamtwert zur Bewertung des Herz-Kreislauf-Zustandes dar
- Referenzwerte von 4,9 - 4,1 weisen dabei auf normale Herzsignale ohne Auffälligkeiten oder Abweichungen eines normalen EKG hin
- geringere Werte ( $\leq 4,0$ ) beweisen nicht automatisch pathologische Zustände, sondern zeigen lediglich Abweichungen eines normalen Verlaufs an

## Stress

- seelische oder körperliche Belastungen stellen für den Körper moderaten Stress dar und können sich auf die elektrischen Signale des Herzens auswirken
- das individuelle Herz (ebenso wie der Mensch) kommen verschieden gut mit Stress zurecht, d.h. können sich verschieden gut auf Belastungen und Anforderungen einstellen
- der Wert gibt an, inwiefern Ihr Herz momentan mit Stress belastet ist bzw. auch wie gut Sie in der Lage sind, sich daran anzupassen

## Herzfrequenz

- bezeichnet die Anzahl der Herzaktionen pro Zeiteinheit (meist 1 Minute)
- Werte sind abhängig von vielen Faktoren wie Alter, Geschlecht, Trainingszustand sodass die angegebenen Referenzwerte lediglich als Richtwerte zu verstehen sind
- bei körperlicher Belastung nimmt die Herzfrequenz unter Normalbedingungen zu

## Blutdruck

- ist der vorherrschende Druck in bestimmten Abschnitten des kardiovaskulären Systems
- ein langfristig erhöhter Blutdruck kann Folgeerkrankungen (v.a. für Herz, Gefäße, Niere) auslösen
- effektivste Methoden zur Blutdrucksenkung:
- Reduktion von Körpergewicht, Alkohol- und Kochsalzkonsum
- Erhöhung alltäglicher Bewegung
- \*Referenzwerte der WHO (Weltgesundheitsorganisation)
- optimal: < 120/80
- normal: < 130/85
- hochnormal: 130-139/85-89
- Hypertonie I: 140-159/90-99
- Hypertonie II: 160-179/100-109
- Hypertonie III: >180/110

## Pulswellengeschwindigkeit (PWG)

- beschreibt die Geschwindigkeit, mit der die durch die Kontraktion des Herzens erzeugte Blutdruckwelle das arterielle Gefäß durchläuft → je starrer die Gefäße, desto schneller die Pulswelle
- die PWG ist somit ein Parameter zur Beurteilung der arteriellen Steifigkeit, und somit kardiovaskulärer Risikofaktoren
- erhöhte Werte sollten im Zusammenhang mit Körpergewicht, Blutdruck, Ernährungsgewohnheiten und Lebensstil betrachtet werden

### III. Selbstständigkeitserklärung

#### *Eidesstattliche Erklärung / Declaration under Oath*

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe.

Alle Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis wurden eingehalten; es wurden keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

I declare under oath that this thesis is my own work entirely and has been written without any help from other people.

I met all regulations of good scientific practice and I used only the sources mentioned and included all the citations correctly both in word or content.

Halle/Saale, 2019

Sarah Mehlhorn

#### IV. Erklärung über frühere Promotionsverfahren

- (1) Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe./

I declare that I have not completed or initiated a doctorate procedure at any other university.

- (2) Erklärung zum Wahrheitsgehalt der Angaben /

Declaration concerning the truth of information given

Ich erkläre, die Angaben wahrheitsgemäß gemacht und die wissenschaftliche Arbeit an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht zu haben. /

I declare that all information given is accurate and complete. The thesis has not been used previously at this or any other university in order to achieve an academic degree

Halle/Saale, 2019

Sarah Mehlhorn

## V. Curriculum Vitae

### **Persönliche Daten**

---

Name: Sarah Mehlhorn  
Geburtsdatum/-ort: 16.12.1994 in 09366 Stollberg  
Geschlecht: weiblich  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### **Ausbildung**

---

10/2013 – 11/2019 Studium der Humanmedizin an der  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
09/2013 – 10/2013 Beginn einer Ausbildung zur  
Operationstechnischen Assistentin am Klinikum Chemnitz

### **Schulbildung**

---

08/2005 – 06/2013 Matthes-Enderlein-Gymnasium Zwönitz  
08/2001 – 07/2005 Rudolf-Hennig Grundschule Zwönitz

Halle/Saale, 2019

Sarah Mehlhorn

## VI. Danksagung

*Ich möchte mich bei meinen betreuenden Professoren Herrn Prof. Dr. Hottenrott und Herrn Prof. Dr. Schmidt für das Ermöglichen dieser Arbeit und die Unterstützung während der praktischen Umsetzung bedanken.*

*Dem Team des Instituts für Leistungsdiagnostik und Gesundheitsförderung Halle, insbesondere Manon Richter, Tina Hanke und Marco Spielau, gilt ein Dankeschön für die angenehme und herzliche Zusammenarbeit an diesem Projekt.*

*Dankbar bin ich meiner Familie und meinen Freunden, die mich auf meinem Weg durch das Studium und während der Anfertigung dieser Arbeit immer begleiteten.*

*Für ihren kompromisslosen Rückhalt in all den Jahren danke ich an dieser Stelle insbesondere meiner besten Freundin, Maria Pöllnitz.*

*Die tiefste Dankbarkeit aber gilt meinem Bruder, Dean Mehlhorn, sowie meinen Eltern, Annett und Ulf Mehlhorn, welche mir meinen bisherigen Lebensweg ermöglichten und denen ich diese Arbeit widme.*