AUS DEM LEHRSTUHL

FÜR KIEFERORTHOPÄDIE

DIREKTOR: PROF. DR. DR. PETER PROFF

DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN

DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

UNTERSUCHUNGEN ZUR PRÄVENTIVEN WERTIGKEIT MATERNALER THIOCYANAT- UND FOLSÄUREGABEN AM TIEREXPERIMENTELLEN INDUKTIONSMODELL BEI LIPPEN-KIEFER-GAUMEN-SPALTEN.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Zahnmedizin

der

Fakultät für Medizin

der Universität Regensburg

vorgelegt von

Anja Brinkmann

2011

AUS DEM LEHRSTUHL

FÜR KIEFERORTHOPÄDIE

DIREKTOR: PROF. DR. DR. PETER PROFF

DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN

DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

UNTERSUCHUNGEN ZUR PRÄVENTIVEN WERTIGKEIT MATERNALER THIOCYANAT- UND FOLSÄUREGABEN AM TIEREXPERIMENTELLEN INDUKTIONSMODELL BEI LIPPEN-KIEFER-GAUMEN-SPALTEN.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Zahnmedizin

der

Fakultät für Medizin

der Universität Regensburg

vorgelegt von

Anja Brinkmann

2011

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Peter Proff

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Michael Behr

Tag der mündlichen Prüfung: 28.12.2011

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis 5

1 Einleitung und Fragestellung 6

2 Literaturübersicht 9

2.1 Zur Ätiologie von Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalten 9

2.2 Auswirkungen spezifischer Substanzen 16

3 Material und Methoden 47

3.1 Material 47

3.2 Methoden 47

3.3 Statistische Methoden 49

4 Ergebnisse 50

4.1 Vitamine, Homocystein und Thiocyanat 51

4.2 Aminosäuren 55

4.3 Korrelationen Kopf- und Amnionparameter 79

5 Diskussion 84

6 Zusammenfassung 98

7 Schrifttum 100

Anhang 118

Anhang A – Abbildungsverzeichnis 118

Anhang B – Abkürzungsverzeichnis 120

Anhang C – Tabellen 122

Anhang D – Erklärung 144

Anhang E – Lebenslauf 145

Anhang F – Danksagung 147

1 Einleitung und Fragestellung

Die Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalte (LKGS), auch Cheilognatho-palatoschisis, ist die häufigste kraniofaziale Fehlbildung und tritt bei Neugeborenen in Mitteleuropa immer noch mit einer hohen Inzidenz von 1:500 bis 1:1500 auf (u.a. *Gabka* 1980; *Weingärtner* et al. 2003_a). Jedoch bestehen offenbar, wahrscheinlich genetisch bedingt, weltweit Unterschiede in der Inzidenz. Nach *Schwenzer* und *Ehrenfeld* (2002) kommt bei Farbigen eine Spalte auf etwa 3000 Geburten vor. Bei Orientalen fanden die Autoren auf etwa 350 Geburten eine Spalte. Am häufigsten ließ sich eine Spalte bei Indianern nachweisen mit etwa einer Spalte pro 150 Geburten (*Schwenzer* und *Ehrenfeld* 2002). Weltstatistiken weisen die Häufigkeit des Auftretens von LKGS mit ca. 1:650 aus (*Schumacher* und *Christ* 1993), wobei LKGS mit ca. 50 % gegenüber Lippenspalten (>25 %) und Gaumen-, Segelspalten (> 20 %) dominieren. Von der Entwicklung des Gesichts bzw. den Ursachen der Spaltbildung und vom Erscheinungsbild her werden Lippen-Kiefer-Spalten (LKS) und isolierte Spalten, d.h. ausschließlich Gaumenspalten (G) unterschieden. Einerseits entstehen beide Spaltformen zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Schwangerschaft, andererseits unterscheiden sie sich auch bezüglich der Häufigkeit und Geschlechtsverteilung, so dass wir von zwei zwar zusammengehörigen, aber doch unterschiedlichen Fehlbildungen sprechen können. Die isolierten Lippen-Spalten sowie Lippen-Kiefer-Spalten (LKGS) sind mit 1:500 Lebend geborenen relativ häufig und betreffen überwiegend Jungen, während die isolierten Spalten im harten und weichen Gaumen (auch mediane Gaumenspalten, Velumspalten und Segelspalten) mit 1:1500 Lebendgeborenen relativ selten und etwas häufiger bei Mädchen zu finden sind.

Normale Vitalfunktionen wie Atmung, Nahrungsaufnahme durch Saugen und störungsfreies Schlucken sind, je nach Ausprägung der kraniofazialen

Fehlbildung, unmöglich. Auch gegenwärtig sind noch viele Fragen unklar und die Inzidenz von LKGS beim Menschen hat innerhalb des letzten Jahrhunderts stetig zugenommen (*Gabka* 1980; *Peters* und *Straßburg* 1969), sich nahezu verdoppelt (*Schubert* 1973). Im Gegensatz zu Fehlbildungen innerer Organe sind Gesichtsspalten schon bei der Geburt unübersehbar und lösen mitunter ein psychisches Trauma bei den Eltern aus (*Schwanitz* und *Zschiesche* 1989).

Kraus et al. (1963) beschreiben, dass inzwischen etwa 12 % aller abortierten Früchte eine LKGS haben. Anhand der postpartalen Inzidenz von etwa 0,5 % wird deutlich, dass die meisten Früchte mit Fehlbildungen während der Schwangerschaft durch Aborte oder Resorptionen verloren gehen.

Bei den lebenden Neugeborenen spielen genetische Ursachen in 5 % eine auslösende Rolle für eine LKGS, wohingegen 95 % multifaktoriell induziert sind (*Weingärtner* et al. 2003_b). Umso wichtiger ist es die Ursachen von Fehlbildungen, wie die der Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalten, zu erforschen, um ihnen rechtzeitig präventiv entgegenwirken zu können. Die meisten Frauen bemerken erst nach längerem Ausbleiben der Regelblutung, nicht selten erst nach dem 40. Tag eine Schwangerschaft (*Westermann* und *Merker* 1981). Da viele Frauen, zum kritischen embryonalen Zeitpunkt des Gaumenschlusses (6. - 8. Woche p.c.) (*Pfeifer* 1966) meist noch nicht einmal wissen, dass eine Schwangerschaft vorliegt, ist es umso bedeutsamer eine perikonzeptionelle Prävention anzustreben, welche eine frühzeitige und umfassende Aufklärung von Frauen im gebährfähigen Alter, vor allem von Frauen mit bereits fehlgebildetem Nachwuchs oder erhöhtem Risiko, erforderlich macht. Aber auch bei den Frauen, die eine Schwangerschaft gewollt anstreben, erfolgt der Schwangerschaftsnachweis zwischen dem 2. und 4. Schwangerschaftsmonat. Zu diesem Zeitpunkt sind die wichtigsten sensiblen Phasen des Neuralrohr- und Gaumenschlußes zumeist schon durchlaufen, ehe die Frucht mittels gesunder Ernährung von seiten der Mutter auf eine gesunde Geburt vorbereitet werden kann (*Weingärtner* et al. 2003_b).

Ziel dieser Arbeit ist es, zu untersuchen, ob speziell durch folat- und thiozyanatreiche Ernährung Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalten präventiv zu behandeln sind.

Nach Spaltinduktion wurden anhand eines Tierexperimentes Beziehungen der Entwicklung der Kiefer-Gesichtsregion der LEW.1A Ratte anhand ausgewählter Parameter am Fetuskopf zu ausgewählten Vitaminen und Aminosäuren (4.3) in der Amnionflüssigkeit analysiert.

Zur Untersuchung eines möglichen prophylaktischen Effektes wurden Folsäure und Thiocyanat sowohl separat als auch kombiniert verabreicht und die Amnionflüssigkeit der LEW.1A Ratte auf ihre Zusammensetzung bezüglich des Vorhandenseins zuvor definierter Vitamine und Aminosäuren hin untersucht.

Hierbei wird insbesondere der Frage nachgegangen werden, inwiefern sich die verwendeten Wirkstoffe Natulan®, Thiocyanat und Folsäure in ihrer Wirkung ergänzen oder ausschließen.

Letztendlich sollen vorliegende Untersuchungsergebnisse auch zu einer zukünftig am Menschen durchführbaren Prävention von LKGS einen Beitrag leisten und zu weiteren Forschungen auf diesem Gebiet anregen.

2 Literaturübersicht

2.1 Zur Ätiologie von Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalten

Fehlbildungen können durch Umwelt- und Erbfaktoren ausgelöst werden, meist kommt es jedoch zu Überlagerungen beider. In der Literatur berichtet *Gabka* (1981_a) vom sogenannten „Genetic Background“. Die Anzahl der exogenen Faktoren ist außerordentlich groß. Dieses kann der folgenden Zusammenstellung aus dem Weltschrifttum für die Entstehung von LKGS zu entnommen werden (Abb. 1).

Abb. 1: Zusammenstellung der Entstehungsmöglichkeiten von LKGS

Gabka (1981_b) plädiert für das Zustandekommen einer typischen LKGS, wenn bei Vorliegen einer genetischen Information in der teratogenetischen

Determinationsperiode ein stärkerer oder schwächerer äußerer Reiz die morphologische Entwicklung stört. Die klinischen Statistiken zeigen die Spaltentstehung auch durch physikalische, chemische und psychische Umweltfaktoren im zweiten und dritten Schwangerschaftsmonat. Ebenfalls Krankheiten, Medikation, Verabreichung von Hormonen, aber auch Stress, Schock sowie seelische Belastungen in dieser Zeit können Ursachen für die Ausbildung von LKGS sein. Bei erblich belasteten Eltern sind Spaltträgerkinder auffallend häufiger anzutreffen (*von Kreybig* und *Stoeckenius* 1978). Vor allem die Zeitspanne, in der die Fehlbildungsfaktoren auf die Embryonalentwicklung einwirken, ist von entscheidender Bedeutung. Werden in der Blastogenese nur wenige Zellen geschädigt, kann der Verlust voll ausgeglichen werden, ohne dass es zu Fehlbildungen kommt. Betrifft die Schädigung jedoch größere Zellkomplexe, resultieren daraus schwerste Fehlbildungen, oder der Keimling stirbt ab. Mit der Embryogenese beginnt ein intensiver Differenzierungsprozess, in dem die Teratogene besonders bei der Herausbildung der Organanlagen ihre größte Wirksamkeit entfalten. In der Fetalperiode nimmt die Empfindlichkeit gegenüber Teratogenen wieder ab, wobei nur noch Organe, wie das Gehirn, gefährdet sind, deren Differenzierung länger anhält. Als Übermittler fungiert die Plazenta als gewebliche Trennwand zwischen mütterlichem und fetalem Blut und ist entscheidend für die Passierbarkeit von Stoffen (*Rostocker Experten*[1] 1985). *Neumann* (1989) plädiert dagegen dafür, dass die Mehrzahl aller Spalten sporadisch, ohne familienanamnestische Hinweise auf eine genetische Grundlage, auftreten. Seinen Untersuchungsergebnissen zufolge kann bei den LKGS eine bedingte genetische Unabhängigkeit angenommen werden, wo hingegen isolierte Gaumenspalten eher ein einheitliches genetisches System vermuten lassen. Auch *Peters* und *Strassburg* (1968) erhärten die Annahme, dass für die Erzeugung von Gaumenspalten kein spezifischer exogener Reiz notwendig ist. Wenn alle Spaltabschnitte betroffen sind, entstehen die sogenannten durchgehenden LKGS. Alle Spalten können ein- oder beidseitig und in unterschiedlichem Ausmaß vollständig oder

[1] dem Autor sind keine Namen der ‚Rostocker Experten' bekannt

unvollständig, sowie als Mikroformen auftreten. Es ergibt sich also eine Vielzahl (> 100) unterschiedlicher Formen oder Schweregrade der Spaltbildungen (*Universitätsklinikum Heidelberg* 2006). Nach *Schwenzer* und *Ehrenfeld* (2002) ergibt die Analyse der Verteilung der einzelnen Subformen aus der Gruppe der LKGS, dass durchgehende LKGS am häufigsten auftreten (40 - 65 %), wobei die linke Seite doppelt so oft befallen ist, wie die rechte. Lippen- und Lippen-Kiefer-Spalten werden mit 20 - 25 % der Fälle angegeben. Isolierte Gaumenspalten treten in 30 % der Fälle auf. Bei der Vereinigung der Gaumenfortsätze beider Seiten untereinander bzw. mit dem primären Gaumen kommt es zunächst zu einer Epithelverklebung mit nachfolgender Degeneration der Epithelzellen und anschließender Verbindung des Mesenchyms. Die Fusion der Gaumenfortsätze beginnt in der 9. Woche zuerst vorn und setzt sich dann bis zur 12. Woche nach hinten fort (*Schumacher* und *Christ* 1993). Ursachen für LKGS werden einerseits auf einer Unterbrechung der Zellmigration aus der Neuralleiste in die Gesichtswülste beruhend, andererseits auf Störungen der Zellproliferation, -degeneration sowie -differenzierung, aber auch auf eine Persistenz der Epithelmauer beruhend angesehen. Des Weiteren werden LKGS gemeinsam mit Syndromen auftretend als Folge von Mutationen angesehen.

Gabka (1976) weist darauf hin, dass LKGS ohne Schwierigkeiten drei bis fünf Generationsfolgen überspringen können, was die Riskoselbsteinschätzung deutlich erschwert.

Weingärtner et al. (2003_b) sprechen für den Verschluß des Neuralrohres beim Menschen ca. in der 4. Embryonalwoche und für den Gaumenverschluß in der 7. - 9. Embryonalwoche und betonen, dass klinisch beide Fehlbildungen, wenn kein genetischer Defekt vorliegt, kaum oder selten assoziiert miteinander auftreten.

Schubert (1973) beschreibt die statistisch gesicherte Schutzwirkung des hochwirksamen Strahlenschutzstoffes Serotonin, das die Entstehung von experimentellen Gaumenspalten verhindern können soll. Nach *Schubert* (1973) zeigen sich erhöhte Überlebensraten der Jungtiere und eine teilweise verminderte Fehlbildungshäufigkeit. Begründet werden können seine Erkenntnisse womöglich durch die kurzfristige Senkung der Sauerstoff-

aufnahme des Organismus nach Serotoninapplikation (*Mozzuchin* und *Racynskj* 1964) und der Tatsache, dass Sauerstoff allein schon eine Schutzwirkung bei Röntgenbestrahlung aufweist (*Rugh* und *Grupp* 1960). Zudem vermutet *Schubert* (1973) eine umgekehrte Abhängigkeit des Schweregrades der Gaumenspalten (nach Breite) zu Größe und Gewicht der Feten. *Von Kreybig* und *Stoeckenius* (1978) beobachten, dass Serotonin durch seine gefäßverengende Wirkung die Blutzufuhr für den Embryo oder Fetus verringern oder unterbrechen kann.

Einen nicht unwesentlichen Stellenwert nimmt der Medikamentenkonsum während der Gravidität ein. So wird besonders die Einnahme von Hydantoin-Derivaten (z.B. Phenytoin) und Phenobarbital mit dem Auftreten von LKGS assoziiert. Der Wirkungsmechanismus scheint dabei auf gebildeten Epoxiden und einem antagonistischen Effekt gegenüber Folsäure zu beruhen (*Koch* und *Kunze* 1996).

Von Kreybig und *Stoeckenius* (1978) betonen ebenfalls, dass die Einnahme von Medikamenten, vor allem Schlafmitteln, Beruhigungstabletten und schmerzstillenden Mitteln während der Schwangerschaft unbedingt vermieden werden soll, da sie sich an ungünstigen Wechselwirkungsreaktionen beteiligen können. *Krost* (2001) fand heraus, dass auch Infektionen, Allergien, die Ernährung, klimatische Faktoren, wie die Intensität des UV-Lichtes, und das soziale Verhalten einen Anteil an der Spaltausprägung haben. Es ist vorstellbar, dass einzelne dieser variablen Umweltfaktoren oder eine Kombination mehrerer vor einem genetischen Hintergrund den komplexen Prozess der Morphogenese von primärem und sekundärem Gaumen in Richtung Schwelle der Abnormität schieben.

Jablonski (1999) misst der Intensität des UV-Lichtes eine Bedeutung bei der Entstehung von Neuralrohrdefekten bei. Des Weiteren führt die UV- Licht-induzierte Photolyse von Folsäure zu Folsäuremangel. *Branda* und *Eaton* (1978) wiesen die Photolyse von Folsäure durch starkes Sonnenlicht in vitro nach und beobachteten das Absinken des Folsäurespiegels in vitro um 30 - 50 % in menschlichem Blutplasma, das eine Stunde starkem Sonnenlicht ausgesetzt war. Zudem erbrachten sie den Nachweis eines

abnorm niedrigen Serum-Folsäure-Spiegels bei Patienten, die dermatologisch mit langwelligem UV-Licht behandelt wurden.

Anhand vorliegender Arbeit wird ein besonderes Augenmerk auf die Ernährung des schwangeren Organismus und diesbezüglich auf die Ausbildung von Spaltformen beim Fetus gelegt. Die Vitamine vom Vitamin-B-Komplex zählen zu den protektiven Faktoren der Ernährung, für die tierexperimentell ein Schutz vor Spaltbildungen nachweisbar ist (*Schubert* 1986). So fassen *Weingärtner* et al. (2003_b) hauptsächlich einen Mangel an Vitamin B_1, B_2, B_6, B_{11}, B_{12} und Vitamin C als Ursachen für das Auftreten von LKGS zusammen. Auch *Schubert* (1980) stellte fest, dass sich der Schutz vor Fehlbildungen um ein Mehrfaches verstärkte, wenn statt isolierter Vitamine aus der B-Gruppe der gesamte Vitamin-B-Komplex verabreicht wurde. So hat er in seinen Versuchen erfolgreich die Bildung von zuvor mit Röntgenstrahlen induzierten Gaumenspalten bei Mäusen durch Solcoseryl®, Vitamin-B-Komplex und Turigeran® verhindern können.

Eine besondere Bedeutung kommt nach *Krost* (2001) auch saisonalen Schwankungen zu. So erzielte *Isaacson* (1959) bei Mäusen nach nächtlicher Applikation identischer Dosen Kortison 60 % Gaumenspalten, am Tage aber lediglich 7 %. Erwähnenswert ist auch die Möglichkeit der allgemeinen Fehlernährung der Mutter aufgrund von Diäten, Bikinisaison und Sommerdiät im Gegensatz zum typischen „Winterspeck“, so *Krost* (2001), was sich wiederum auf die Entwicklung des Feten auswirken kann.

Im Verlauf der Schwangerschaft nehmen die Konzentrationen der Aminosäuren nach *Dörner* und *Schulze* (1993) in der Regel ab, lediglich Threonin zeigt einen deutlichen, statistisch signifikanten Anstieg. Hierbei wurde die gesamte Schwangerschaft (1. - 3. Trimenon) betrachtet und zusätzlich signifikante Anstiege von Asparagin (1. und 2. Trimenon), von Glutaminsäure (2. und 3. Trimenon), von Alanin (1. und 3. Trimenon) und von Cystein (1. und 2. Trimenon) festgestellt. Die physiologische Bedeutung des im Gegensatz zu den zuletzt genannten Aminosäuren ausgeprägten Anstiegs des Threonins ist jedoch unklar (*Dörner* und *Schulze* 1993).

Peters und *Straßburg* (1969) stellten eine Auflistung bisher zur Erzeugung von Gaumenspalten im Tierversuch verwendeter exogener Noxen

zusammen, aus der die ätiologische Vielfalt und die mögliche Beachtung am Menschen anhand anamnestischer Angaben hervorgehen. Die Autoren betonen, dass für die Entstehung von Fehlbildungen, sowohl die teratogenen Eigenschaften eines Reizstoffes, als auch der Zeitpunkt seiner Applikation und die Dosis als ausschlaggebende Faktoren zu diskutieren sind. Als Unbestritten gilt, dass derselbe Reiz zu verschiedenen Zeiten der Intrauterinentwicklung einen unterschiedlichen Effekt hervorrufen kann. In der Literatur wird auch mitunter von einem Schwellwert berichtet, der in Form eines exogenen Reizes zu einer genetischen Information hinzukommen muß, um eine Spaltbildung zu manifestieren (*Gabka* 1980). Exogene Reize, die *Peters* und *Straßburg* (1969) im Zusammenhang mit der Erzeugung von Gaumenspalten aufzeigen sind beispielsweise operative Eingriffe (Fruchtblasenpunktion), nicht-stoffliche Reize, wie Klingel- und Lichtsignale, Lärm, Hypothermie, Hungern, Sauerstoffmangel, die Einwirkung verschiedener Hormone und Hormonderivate (Cortison, Thyroxin u.a.), Strahleneinwirkungen in Form von Kurzwellen, Röntgen- oder Radiocobalt-bestrahlung, Infektionskrankheiten und andere Stoffe. Ebenso berichten sie über die Erforschung von Vitaminen als exogene Reize im Tierversuch an überwiegend Ratten, aber auch an Mäusen, vor allem in Form von Mangel- oder Überangebotszuständen. *Gabka* (1980) fügt als Schwellwerte u.a. noch relativ hohes Entbindungsalter, Zwillingsgeburten, Sauerstoffmangel, Abtreibungsversuche und psychische Traumen hinzu. *Westermann* und *Merker* (1981) konnten zeigen, dass zusätzlich zum spaltinduzierenden Dexamethason mit Hämoderivat behandelte NMRI-Mäuse eine signifikant niedrigere Spaltfrequenz aufwiesen, als die Kontrollgruppe.

Durch einen interessanten Versuch an Mäusen lassen *Peters* und *Straßburg* (1969) die Vermutung zu, dass offenbar jeder unphysiologische Außenreiz, sobald er beim Muttertier in der für den Gaumenschluß phänokritischen Phase eine Stresssituation auslöst, einen teratogenen Effekt haben kann. Hierzu erzeugen sie einerseits einen immunologischen Schock durch einmalige, subkutane Zweitinjektion eines Fremdserums nach vorheriger Sensbilisierung. Andererseits entziehen sie einmalig über 10 Stunden feste Nahrung bei normalem Trinkwasserangebot. Zudem verfüttern sie einmalig, ausschließlich Rosinen (Mäuse verweigern generell Rosinen als Nahrung,

solange ihnen anderes Futter zur Verfügung steht) über 24 Stunden oder setzen die Versuchstiere mehrmaligen Lärmintervallen aus. Alle Versuchsanordnungen erzeugten signifikante Erhöhungen der Fehlbildungsquote im Vergleich zu den Kontrolltieren. Der teratogene Effekt wird mit einer Stresssituation der Mutter gedeutet (*Peters* und *Strassburg* 1968). Somit wird auch Stress, den *Selye* (1953) als „Summe aller nicht-spezifischen biologischen Erscheinungen" charakterisiert, als mögliche Ursache für das Auftreten von Gaumenspalten diskutiert. Entgegen der Annahme, dass ein kurzfristiges Hungern der Mutter dem Keimling nicht schade, da er sich die von ihm benötigten Nährstoffe „nehme", legen *Peters* und *Strassburg* (1968) nahe, dass bereits ein einmaliger, relativ kurzfristiger Entzug fester Nahrung nicht nur zu Lasten der Mutter geht (Gewichtsverluste bis ca. 1/15 des Körpergewichtes), sondern auch einen teratogenen Effekt auf den sich vor dem Stadium der Plazentation befindlichen Keimling haben kann, wenn der Mangel in der phänokritischen Phase einer bestimmten Organentwicklung wirksam wird.

Chung et al. (2000) bestätigen den Verdacht, dass Rauchen während der Schwangerschaft Lippen-/ Gaumenspalten verursacht. In der bisher größten Studie mit nahezu 4 Millionen Lebendgeburten darunter 2207 Neugeborenen mit Lippen-/ Gaumenspalten wurden die Eltern nach Rauchgewohnheiten befragt. Rauchen erhöhte dosisabhängig das Auftreten dieser Fehlbildung. Bei Raucherinnen von 1 - 10 Zigaretten pro Tag stieg das Risiko um den Faktor von 1,5 an, bei Raucherinnen von mehr als 20 Zigaretten pro Tag um den Faktor 1,78.

Weingärtner et al. (2003_c) halten einen Vitamin B_{12}-Mangel für höchst unwahrscheinlich als Ursache für Gaumenspalten oder Neuralrohrdefekte. Ganz im Gegensatz dazu sind ein Absinken der Folsäurekonzentration und ein Anstieg des Homocysteins im Fruchtwasser als kritisch anzusehen. Besonders am 14. Trächtigkeitstag der LEW.1A Ratte wirkt sich metabolischer Stress besonders aus und kann nicht nur den Verschluss des sekundären Gaumens, sondern auch die Reifung anderer Organe verhindern.

Das für die Spaltentstehung bereits beschriebene multifaktorielle Ursachengefüge erschwert die Erforschung prophylaktischer Möglichkeiten, beispielsweise durch die Applikation von Folsäure und/ oder Thiocyanat.

2.2 Auswirkungen spezifischer Substanzen

2.2.1 Natulan®

Das Methylhydrazin-Derivat Procarbazin (Natulan®) wird im Organismus zu zytotoxischen Metaboliten biotransformiert, welche u. a. zu Chromatinbrüchen und DNA-Veränderungen führen (*Mutschler* 2001). Natulan® hemmt somit die Zellteilung. Natulan® ist zur Anwendung bei Morbus Hodgkin und Non-Hodgkin-Lymphomen bestimmt und während der Schwangerschaft sowie Stillzeit aufgrund seiner schädigenden Wirkung auf das Keimepithel und die Entwicklung der Frucht kontraindiziert (*Rote Liste* 2006). Der zytostatische Effekt beruht im Wesentlichen auf der Freisetzung von H_2O_2, welches zur Fragmentierung von DNA und RNA führt (Robbiano et al. 1994) und die Mitose in der prolongierten Interphase unterdrückt.

Tierexperimentell konnte *Martens* (2003) bei der LEW.1A Ratte durch am 14. Trächtigkeitstag intraperitoneal per injektionem verabreichtes Procarbazin (20 mg/100g Lebendmasse) Spalten des sekundären Gaumens, Mikrogenien und verstärkte Überbisse induzieren. *Liefländer* et al. (2006) zeigten, dass unter Procarbazineinwirkung die Knochenreifung und das fetale Knochenwachstum immer verzögert abliefen.

Die Dosierung im Sinne humanmedizinischer Nutzung liegt bei einer peroralen Verabreichung von täglich 100 mg/m² Körperoberfläche für 10 - 14 Tage (*Rote Liste* 2006). Da Procarbazin schnell und vollständig resorbiert wird, kann es bereits 30 - 60 Minuten nach Einnahme als radioaktiv markierter Wirkstoff in Leber, Niere und Haut nachgewiesen werden (*Schwartz* et al. 1967). Die Halbwertszeit beträgt ca. 3 Stunden, wobei die Ausscheidung, zumeist in Form von Metaboliten, zu etwa 25 % innerhalb der ersten 24 Stunden erfolgt (*Dold* et al. 1993). Die mittlere Plasmahalbwertszeit nach i.v.-Gabe dagegen beträgt nach der Natulan® -Produktinformation sowie *Dorr* und *Fritz* (1980) etwa 7 - 11 Minuten.

Einen teratogenen Einfluss des Procarbazins auf den primären Gaumen konnte *Martens* (2003) nicht beobachten, was womöglich, im Einklang mit *Bienengräber* et al. (1999_a), mit dem Zeitpunkt der Procarbazinapplikation zu erklären ist, da am 14. Trächtigkeitstag die Entwicklung des primären Gaumens bereits abgeschlossen ist und somit nur noch ein geringer Einfluss anzunehmen ist sowie die sensiblen Entwicklungsphasen des primären Gaumens bereits überwunden waren. Neben vollständigen (totalen) Spaltbildungen ermittelte *Martens* (2003) unter Procarbazineinwirkung auch subtotale Spalten in Form eines erweiterten Canalis incisivus.

Gundlach et al. (1986) machen deutlich, dass Procarbazin ab einer Dosis von 150 - 300 mg/kg Körpergewicht Fehlbildungen bei Ratten erzeugen kann. Bei Gabe am 13. Trächtigkeitstag kommt es zu Fehlbildungen der vorderen Extremitäten und des Gehirns, wo hingegen eine Applikation am 14. Trächtigkeitstag zu Dysplasien des Gesichtsschädels, Gaumenspalten, Brachygnathien und Hypoplasien der Mandibula, schweren Extremitätenfehlbildungen sowie auch vermehrt zu resorbierten Früchten führt. Bei Injektion von nur 50 mg Procarbazin am 14. Trächtigkeitstag konnten bei Ratten lediglich Wachstumsretardierungen, jedoch keine Fehlbildungen gefunden werden.

Als Beispiel der bei Menschen beobachteten Nebenwirkungen seien akute, reversible gastrointestinale Beschwerden wie Anorexie, Erbrechen und Übelkeit, allergische Reaktionen, pulmonale Veränderungen, anaphylaktischer Schock, Depression, Halluzinationen oder reversible Parästhesien der Extremitäten genannt. In Kombination mit anderen Alkylanzien ist bei etwa 50 % der Frauen das permanente Sistieren der Ovarialfunktion beschrieben worden (*Rote Liste* 2006).

Die Gabe von 200 mg Procarbazin/kg Körpermasse am 14. Trächtigkeitstag erzeugte bei Wistar-Ratten eine verzögerte Ossifikation (94 % der Feten) sowie Fehlbildungen der Rippen (82 % der Feten), der Extremitäten (71 % der Feten), der Wirbelsäule (35 % der Feten) und des Beckens (24 % der Feten) (*Bienengräber* et al. 1996, 1997). Einen teratogenen Effekt des Zytostatikums Procarbazin erkannten bereits *Abou-Tara* (1975), *Lee* und *Dixon* (1978). Bei Gabe von Procarbazin am 14. Trächtigkeitstag werden bei

Rattenfeten Spalten des sekundären Gaumens induziert (*Bienengräber* et al. 1996, 1997, 2001).

2.2.2 Homocystein

Homocystein ist ein schwefelhaltiges Intermediärprodukt im Stoffwechsel der essentiellen Aminosäure Methionin.

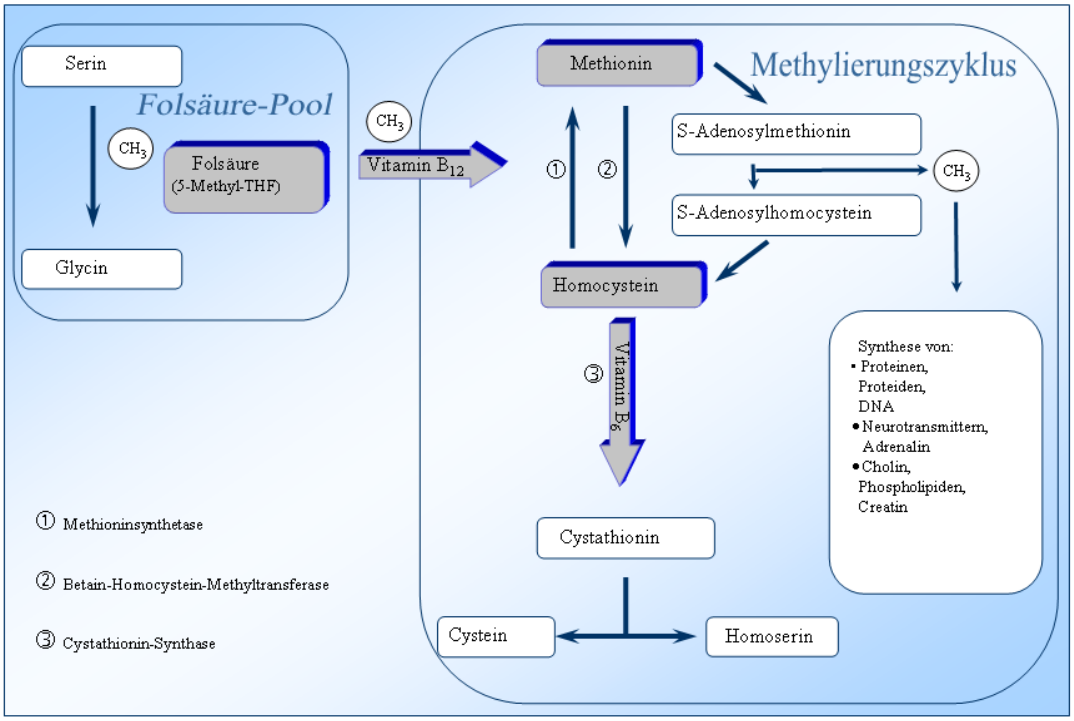

Abb. 2: Stoffwechsel von Homocystein

Defizite der Vitamine Folsäure, Vitamin B_{12} und /oder B_6 sowie eingeschränkte Enzymaktivitäten führen durch Abbauhemmung zur intrazellulären Konzentrationserhöhung von Homocystein (*Stanger* et al. 2003). Homocystein, eine nicht-proteinogene Aminosäure, auch als α-Amino-γ-mercaptobutyrat bezeichnet, entsteht als Zwischenprodukt durch Abspaltung der Methylgruppe von Methionin im Methioninstoffwechsel. Dabei bilden S-Adenosylmethionin und S-Adenosyl-Homocystein die Stoffe Adenosin und Homocystein. Die Remethylierung (Methioninbildung) von Homocystein ist durch die Vitamin B_{12}-abhängige Methioninsynthase oder durch Betain-Homocystein-Methylase möglich. Durch Transsulfurierung erfolgt der

pyridoxalphosphatabhängige Abbau von Homocystein durch Verlust der Sulfhydrylgruppe zu Serin unter Cysteinbildung (*Stanger* et al. 2003).

Laut *Weingärtner* et al. (2003_a, 2005) werden Hyperhomocysteinämien auch als Auslöser von embryonalen Fehlbildungen, Herzinfarkten, Schlaganfällen sowie Plazentaablösungen gesehen. *Weingärtner* et al. (2003_d) konnten am Beispiel der LEW.1A Ratte in ihren Versuchen, während der Wachstums- und Reifungszeit vom juvenilen zum adulten Tier, im Blutplasma konstante Vitamin B_{12}-, jedoch ansteigende Homocysteinkonzentrationen nachweisen.

Naurath (2004) lässt auch einen negativen Einfluss der Hyperhomocysteinämie auf das Zentralnervensystem in Form von Demenz und Depression erkennen. Mit zunehmendem Alter kommt es womöglich durch altersbedingte Resorptionsschwäche zu einem Anstieg der Homocysteinwerte und gleichzeitig zu verringerten Folsäure-, Vitamin B_{12}- und Vitamin B_6-werten im Blut (*Weingärtner* et al. 2003_a). Dies sind u.a. Risikofaktoren für eine Schwangerschaft bei Frauen über 35 Jahren. Zudem haben Frauen mit unbehandelter, genetisch determinierter Hyperhomocysteinämie nach Untersuchungsergebnissen von *Mudd* et al. (1985) eine Abortrate von mindestens 50 %. *Dufaux* (2005) berichtet, dass aus einer Reihe neuerer Studien hervorgeht, dass ein erhöhter Homocysteinspiegel, der als Folge eines Folsäuremangels auftreten kann, mit einem gesteigerten Osteoporoserisiko assoziiert ist. So wurde in einer Langzeitstudie (Dauer zwischen 5,7 bis 8,1 Jahren) mit mehr als 1000 Teilnehmern im Alter zwischen 50 und 90 Jahren gezeigt, dass die höchsten Homocysteinwerte (höchste Quartile) mit einem 1,9 fach höheren osteoporosebedingten Frakturrisiko einhergehen.

Weingärtner et al. (2003_c) beobachteten einen Anstieg des Homocysteins gegen Ende der Gravidität der LEW 1.A Ratte, sowohl im Fruchtwasser als auch im mütterlichen Blut, wobei in ihren Versuchen die Homocysteinkonzentration im Fruchtwasser 30 % geringer gegenüber der Homocysteinkonzentration im mütterlichen Blut war. *Hages* (1996) betont, dass bei den Feten der Homocysteinwert ca. 50 % unterhalb der mütterlichen Konzentration liegt und zudem ein linearer, hochsignifikanter Zusammenhang zwischen der Homocysteinkonzentration von Mutter und

Kind besteht, wobei das Konzentrationsniveau von Mutter und Kind wesentlich durch die Folatversorgung der Mutter bestimmt wird. Das könnte nach *Hages* et al. (1995) erklären, dass durch die Folsäureversorgung, das Konzentrationsniveau des potentiell teratogenen Homocysteins beeinflusst und das Fehlbildungsrisiko möglicherweise gesenkt wird.

Daneben besteht ein Zusammenhang zwischen der Homocysteinkonzentration im Serum der Mutter und den Konzentrationswerten in ihrer Follikular- bzw. der Amnionflüssigkeit (*Hages* 1996). Eine Homocysteinzunahme im Gewebe kann auch Ausdruck einer gestörten Nierenfunktion sein (*Herrmann* et al. 2001). Folsäuremangel allein oder in Kombination mit Vitamin B_{12}- und Vitamin B_6-Mangel gelten als häufigste Ursachen für Homocysteinzunahme (*Stampfer* und *Willett* 1993; *Eskes* 1998).

2.2.3 Vitamin B_{12}

Beim Vitamin B_{12} handelt es sich um eines der größten nicht-polymeren biologischen Moleküle, welches sich aus einem zentralen Cobaltatom mit sechs Liganden zusammensetzt (*Michal* 1999). Der tägliche Bedarf Erwachsener an dem wasserlöslichen Vitamin B_{12} (= Cobalamin /Coenzym B_{12}) beträgt 1,5 - 2,2 nmol (*Löffler* und *Petrides* 1998). Cobalamin dient der Umlagerung von Alkylresten sowie der Methylierung von Homocystein.

Es ist wichtig zur Reduktion von Ribonukleotiden zu Desoxyribonukleotiden, sowie zur Biosynthese von Purin- und Pyrimidinbasen und auch zur Bildung der Myelinscheiden im ZNS. Cobalamin findet man in proteingebundener Form in tierischen Lebensmitteln. Es kann ausschließlich durch Mikroorganismen, vor allem Anaerobier (z.B. Darmbakterien) synthetisiert werden. Cobalamin bindet in den Belegzellen der Magenschleimhaut an ein spezifisches Transportprotein, den Intrinsic factor. Es gelangt über den Verdauungstrakt ins Blut. Hier erfolgt die Bindung an Transcobalamin II und durch Endozytose wird der Eintritt in die Leber möglich, wo die Umwandlung in zytosolisches Methylcobalamin oder nach Mitochondrienaufnahme in Adenosyl-Cobalamin, die Coenzymformen des Cobalamins stattfinden. Methylcobalamin ist notwendig zum Transfer der Methylgruppe zwischen Methyltetrahydrofolsäure und Homocystein. Resorptionsstörungen durch

Mangel oder gar Fehlen an Intrinsic factor führen zu verminderter Cobalaminresorption und haben Beeinträchtigungen der Purin- und Thyminsynthese zur Folge. Hauptsymptome dieser sogenannten perniziösen Anämie sind zudem die Störung der Erythropoese, Leuko- und Thrombozytopenie.

Neurologische Beeinträchtigungen zeigen sich auch bei Cobalaminmangel, der eine Verminderung von Cholin- und Phospholipidsynthese und Nucleinsäurebiosynthese auslöst. Es kommt zu einem toxischen Effekt durch verminderte Umwandlung von Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA durch Anhäufung von Methylmalonat. Es zeigen sich motorische Lähmungen, spastische Ataxien und Störungen der Vibrationsempfindung (*Löffler* und *Petrides* 1998).

Laut Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (*Bartholomäus* und *Lugger* 2003) sollten Frauen und Männer zwischen 25 - 51 Jahren täglich 3,0 µg Vitamin B_{12} zu sich nehmen. Frauen aller Altersstufen deckten ihren Vitamin B_{12}-Bedarf bisher im Schnitt zu 158 % und Männer sogar zu 238 %. Dennoch nehmen über 10 % der Frauen weniger Vitamin B_{12} auf, als empfohlen. Seelachs wäre besonders reichhaltig und fördere die Bildung von Blutkörperchen im Knochenmark. Vor allem Senioren, von denen bei mehr als 33 % ein Vitamin B_{12}-Mangel nach ärztlicher Empfehlung therapiert wird, Vegetarier und Dauerdiäter leiden häufig unter schweren Vitamin B_{12}-Mangelzuständen. *Mutschler* (2001) hebt das Auftreten der Mangelkrankheit Perniziöse Anämie hervor. Er empfiehlt (unter Berufung auf die empfohlene tägliche Zufuhr gemäß den Angaben der DGE) einen mittleren Tagesbedarf eines Erwachsenen von 0,003 mg und spricht von einer mit Sicherheit unschädlichen Tagesdosis von 1 mg.

Zudem zeigt *Mutschler* (2001) Richtwerte zur Einschätzung des Vitaminstatus von Erwachsenen (modifiziert nach *Biesalski* 1999) auf, wonach eine akzeptable Menge bzw. Konzentration von Vitamin B_{12} bei Werten > 150 pg/ml sowie eine niedrige Menge bzw. Konzentration (mäßiges Vitaminmangel-Risiko) bei Werten von 100 - 150 pg/ml vorliegt.

Es begründet sich eine empfohlene Mehrzufuhr von Vitaminen bei Schwangeren (ab 4. Monat) und während der Stillperiode aufgrund der

Bedarfssteigerung an Vitamin B_{12} bei Schwangeren und Stillenden um 33 % (*Mutschler* 2001).

Weingärtner et al. (2003_c) untersuchten an graviden LEW.1A Ratten Veränderungen des Vitamin B_{12} im mütterlichen Blut und im Fruchtwasser. Im Vergleich zum mütterlichen Blutplasma fanden sie am 14. Trächtigkeitstag (Zeitpunkt des Verschlusses des sekundären Gaumens) eine vierfache Vitamin B_{12}-Konzentration im Fruchtwasser und am 21. Trächtigkeitstag eine 2,6- fache Vitamin B_{12}-Konzentration im Fruchtwasser vor. Die fetale Vitamin B_{12}-Aufnahme scheint offensichtlich über aktive Transportmechanismen abzulaufen, so *Weingärtner* et al. (2003_c).

2.2.4 Folsäure

Folsäure ist ein wasserlösliches, hitzelabiles und lichtempfindliches Vitamin aus der Reihe der B-Vitamine. Erst in den letzten 10 - 15 Jahren ist das Interesse an dieser Substanz fast sprunghaft angestiegen, weil es sich gezeigt hat, dass in ihr ein hohes präventivmedizinisches, sowie sehr geringes toxisches Potential liegt (*Weingärtner* et al. 2003_b). Die Bezeichnung Folat kennzeichnet die natürlich vorkommende Form des Vitamins und wird durch Mikroorganismen im Darm sowie in Geweben höherer Pflanzen und Tiere synthetisiert. Besonders folathaltig sind nach Angaben von *Weingärtner* et al. (2003_b) neben Spinat, Bohnen und Rüben auch Eier, Leber, Milch und Milchprodukte sowie Nahrungsstoffe, die Hefe enthalten. *BgVV* und *BZgA* (2001) ergänzen Broccoli, Hülsenfrüchte, Kartoffeln, Weizenkeime, Vollkorngetreideprodukte sowie Zitrusfrüchte und -säfte als besonders reich an Folaten.

Folsäure stellt einen Oberbegriff dar, der im eigentlichen Sinne die Bezeichnung für die stabile, synthetische Form, die Pteroylmonoglutaminsäure (PGA) des Vitamins ist, die so in der Natur nicht vorkommt (*Heinz* und *Dierkes* 2004). Die biologisch aktive Form ist die Tetrahydrofolsäure (FH_4). Sie wird bei der 2-stufigen, $NADP^+$-abhängigen Reaktion, an der auch Vitamin C beteiligt ist, aus Folsäure gebildet.

In der Schwangerschaft braucht der Fetus nach *Hages* (1996) hohe Folsäuremengen zur Aufrechterhaltung eines adäquaten Zellwachstums und

einer optimalen Zelldifferenzierung, denn Folsäure ist für den DNS, RNS- und Proteinstoffwechsel, u.a. als Cofaktor der DNA- und RNA-Biosynthese von fundamentaler Bedeutung (*Weingärtner* et al. 2004_b). *Hol* et al. (1998), *Hörsten* und *Pelz* (1996) sowie *Tolarova* und *Harris* (1995) konnten durch ihre Studien an schwangeren Frauen erkennen lassen, dass eine zusätzliche Folsäuregabe zur Prävention von LKGS und anderen Fehlbildungen beiträgt.

Folat ist in Form von 5, 6, 7, 8-Tetrahydrofolat (THF) sowie dessen Derivaten vor allem bei Prozessen der Zellteilung und somit der Zellneubildung wirksam. Daraus resultiert die Bedeutung für die Vergrößerung des Uterus, die Entwicklung des Feten, der Plazenta und des Brustgewebes sowie die Ausdehnung des Blutvolumens während der Gravidität (*DGE* 2002). Aufgrund dessen hat die Folsäure eine essentielle Bedeutung für Zellteilung und Gewebewachstum in der Embryogenese, Fetogenese und beim postpartalen Wachstum (*Bienengräber* et al. $1999_{a, b}$, 2001; *Barber* et al. 1999). Der Bedarf an Folsäure ist dementsprechend in der Schwangerschaft, Stillzeit und bei Anwendung bestimmter Medikamente (Antituberkulotika, Kontrazeptiva) zum Teil stark erhöht (*Weingärtner* et al. 2003_b).

Barber et al. (1999) konnten eine erhöhte Folatrezeptorenanzahl in der mütterlichen Plazenta, im Synzytiotrophoblasten und im fetalen Neuroepithel nachweisen. Zudem nehmen *Barber* et al. an, dass abnormale Folsäurerezeptoren mit verminderter Affinität zur verfügbaren 5-Methyltetrahydrofolsäure in den kritischen Phasen der Entwicklung für die Ausbildung eines Folsäuremangels im Zytoplasma der Zielzellen verantwortlich sein könnten. Ein zusätzliches Folsäureangebot könnte dies kompensieren und erklärt die präventive Wirkung einer Folsäuregabe.

Bei der Bestimmung des Folatstatus im Organismus ist die Serumkonzentration, die die momentane, also kurzfristige Folataufnahme wiederspiegelt von der Konzentration in den Erythrozyten zu unterscheiden. Letztere ändert sich erst nach ca. 16 - 18 Wochen nach erhöhter bzw. erniedrigter Folataufnahme (*Weingärtner* et al. 2003_b) und ist demnach zuverlässiger. Der normale Folsäure-Blutplasmaspiegel beim Menschen liegt zwischen

7 und 36 nmol/l und der Normbereich der Folsäurekonzentration in den Erythrozyten bei 320 - 1300 nmol/l (*Staub* und *Gallmann* 1996).

Auswirkungen von Folsäuremangel können kongenitale Fehlbildungen - insbesondere Neuralrohrdefekte und LKGS - sowie verringerte Wurfgrößen und fetale Wachstumsstörungen sein (*Heid* et al. 1992; *Snodgrass* 1992; *Czeizel* et al. 1996; *Weingärtner* et al. 2005). Unter Folsäuregabe konnten ein Rückgang der Anzahl an Frühgeburten und ein erhöhtes Geburtsgewicht beobachtet werden (*Hall* und *Solehdin* 1998; *Heid* et al. 1992).

Des Weiteren kommt es nach Applikation von Folsäureantagonisten Trimetoprim, Aminopterin oder Amethopterin zur Beeinträchtigung von Pyrimidin- und Purinnucletiden, welche eine Hemmung der Leukozyten-proliferation zur Folge haben. Aminopterin und Amethopterin wirken als Antivitamine durch Hemmung der Dihydrofolatreduktase, welche die Bildung von Tetrahydrofolsäure aus Folsäure blockiert und somit zu einer Abnahme der Mitoserate führt. Bei Folsäuremangel wird Formiminoglutaminsäure (FIGLU) vermehrt im Urin ausgeschieden und kann somit diagnostiziert werden (*Hages* 1996).

Butterworth und *Bendich* (1996) halten im Zusammenhang mit prä- und perikonzeptioneller Prävention ein ausreichendes Angebot an Folat drei Monate vor und drei Monate nach der Empfängnis für besonders wichtig. Nach Empfehlungen der DGE (2002) sollten Frauen und Männer zwischen 25 - 51 Jahren täglich 400 µg Folsäure-Äquivalenten (Summe aus Folsäure und Nahrungsfolaten) und Schwangere, die einen höheren Bedarf haben, 600 µg Folsäure-Äquivalente zu sich nehmen (*BgVV* und *BZgA* 2001; *DGE* 2002). *Bower* (1995) plädiert für eine humanpräventive Wirkung im Bereich zwischen 0,36 und 0,8 mg Folsäure/Tag und *Czeizel* (1998) hält in der perikonzeptionellen Periode 0,66 mg Folsäure/Tag für optimal. Verschiedene große Studien zeigten, dass eine zusätzliche Zufuhr von täglich 400 µg Folsäure als Supplement vor und nach der Empfängnis die Häufigkeit von Neuralrohrdefekten um 50 % verringern kann. Daher empfehlen die *BgVV* und *BZgA* (2001) und die *DGE* (2002) eine zusätzliche Einnahme von 400 µg Folsäure täglich mindestens vier Wochen vor der Empfängnis und drei Monate danach, um das Risko zu mindern, ein

Kind mit Fehlbildungen, wie Neuralrohrdefekten oder LKGS zu bekommen. Frauen, die bereits ein Kind mit einem Neuralrohrdefekt geboren haben, sollten aufgrund des zusätzlichen Risikos bei Kinderwunsch 4 oder 5 mg/Tag Folsäure prophylaktisch einnehmen (*BgVV* und *BZgA* 2001; *Hages* 1996; *Koletzko* und *von Kries* 1995). Die *DGE* (2002) zählt zur Risikogruppe auch sehr junge Mütter, deren Folatspeicher durch den Wachstumsschub in der Pubertät vermindert ist sowie Frauen mit Mehrlingsschwangerschaften und rasch aufeinander folgenden Schwangerschaften. Allerdings gibt es Hinweise darauf, dass eine Folsäuresupplementierung mit Beginn erst nach der Konzeption, aber innerhalb der ersten vier Schwangerschaftswochen, ebenfalls noch wirksam ist (*Hages* 1996). Frauen aller Altersstufen deckten ihren Folsäurebedarf bisher nur zu 59 % und Männer zu 71 %. Die Unterversorgung mit Folsäure ist der häufigste Vitaminmangel und kann zu Depressionen und Blutarmut führen. Jedoch sollten Vitamine auch nicht in zu großen Mengen aufgenommen werden. So warnt die DGE (2002) bei allen Vitaminen vor dem Konsum von mehr als 300 % der empfohlenen Tagesdosis (*Bartholomäus* und *Lugger* 2003). Tatsache ist jedoch, dass die normale Ernährung den Mehrbedarf an Folat/ Folsäure in der Schwangerschaft nicht deckt (*BgVV* und *BZgA* 2001) und nur durch zusätzliche Folsäuregabe als Pharmakon oder durch eine Folsäure-anreicherung der Nahrung zu decken ist (*Heinz* und *Dierkes* 2004). Ein Problem scheint die Unkenntnis vieler Frauen bezüglich der Folsäurebedeutung darzustellen. So sind laut Bundesgesundheitssurvey von 1998 gerade einmal 23 % der Frauen im Alter von 18 - 40 Jahren über den positiven Effekt der Folsäure in der Schwangerschaft informiert (*DGE* 2002). In verschiedenen Ländern, wie in den USA, Kanada, Chile und Ungarn wurde nach Angaben von *Heinz* und *Dierkes* (2004) eine Folsäure-anreicherung von Grundnahrungsmitteln gesetzlich festgelegt. In Deutsch-land ist eine gesetzliche Regelung zur Folsäureanreicherung von Nahrungsmitteln derzeit nicht realisierbar (*Heinz und Dierkes* 2004), obwohl dadurch praktisch die gesamte Population erreicht werden könnte, so dass auch für ungeplante Schwangerschaften ein effektiver Schutz erzielt werden könnte (*Koletzko* und *von Kries* 1995). Demnach wäre nach *Koletzko* und *von Kries* (1995) für eine breitenwirksame Prävention eine breit angelegte

Kampagne zur Information der Bevölkerung insgesamt notwendig. Koletzko (2005) plädiert dafür, dass alle Frauen, die ein Kind planen, Folsäurepräparate benötigen. Obwohl dies bereits aus vielen Studien hervorgeht, nahmen 2001 nur 50 % aller betroffenen Berliner Frauen Folsäure ein und riskierten somit schwere Fehlbildungen ihrer Embryonen. Nach Koletzko soll Folsäure die Konzentration eines aggressiven „Eiweißstoffes“ (Homocystein) (2.2.2) im Blut senken und so vor Herzerkrankungen schützen (*Bartholomäus* und *Lugger* 2003). Insgesamt benötigen Schwangere bei einigen Vitaminen mehr: 1,1 mg Vitamin A, 1,2 mg Vitamin B_1, 1,5 mg Vitamin B_2, 15 mg Niacin, 1,9 mg Vitamin B_6, 3,5 μg Vitamin B_{12} und 600 μg Folsäure täglich. Aber auch bei Dauerbelastung und Überlastung soll Folsäure in Kombination mit den B-Vitaminen und Pantothensäure, welche wichtig für die Lern- und Leistungsfähigkeit sind, gerade für „Managertypen“ wichtig sein. Vor allem auch schwangere Diabetikerinnen könnten laut Studien mit einem Multivitamincocktail die Wahrscheinlichkeit von Schäden für das Neugeborene senken (*Bartholomäus* und *Lugger* 2003).

Mutschler (2001) verweist auf die Mangelkrankheit Megaloblastische Anämie, sowie auf in der Schwangerschaft erhöhte Fehlbildungsraten und empfiehlt als mittleren Tagesbedarf für Erwachsene 0,4 mg Folsäure. Er geht von einer mit Sicherheit unschädlichen Tagesdosis von 8 - 16 mg aus und beruft sich damit auf die empfohlene tägliche Zufuhr gemäß den Angaben der DGE (2001). Folgende Richtwerte zur Einschätzung des Vitaminstatus von Erwachsenen (modifiziert nach *Biesalski* 1999) werden angegeben: eine akzeptable Menge bzw. Konzentration liegt bei > 6 ng/ml vor, sowie eine niedrige Menge bzw. Konzentration und somit ein mäßiges Vitaminmangelrisiko bei Werten zwischen 3 - 6 ng/ml. *Mutschler* (2001) empfiehlt eine Mehrzufuhr von Vitaminen bei Schwangeren (ab 4. Monat) und während der Stillperiode, aufgrund der Bedarfssteigerung bei Schwangeren um 100 % und bei Stillenden um 53 %.

Der Folsäurebedarf wird außer durch Milch, Leber und Niere besonders durch grünes Blattgemüse gedeckt - erwartungsgemäß würde es im Winter zu einem Mangel kommen (*Chabora* und *Horowitz* 1974). *Wickham* et al.

(1983) zeigten jedoch, dass die Folsäureaufnahme von März bis Juni am niedrigsten bzw. von November bis Februar am höchsten ist und die Monate Juli bis Oktober eine Mittelstellung einnehmen. Auch *Krost* (2001) kann diesen Trend anhand gemessener Serum-Folat-Konzentrationen bestätigen und begründet diesen mit womöglich gesundheitsbewussterem und damit vitaminreicherem Ernährungsverhalten im Winter. Aufgrund des Folsäure-maximums im Winter konnte *Krost* ein Minimum an Fehlbildungen bei Konzeption in dieser Jahreszeit beobachten. Somit beeinflussen Schwankungen des Folsäurespiegels über das Jahr möglicherweise die saisonal schwankenden Fehlbildungsrisiken. Ursache für die unerwarteten Beobachtungen ist möglicherweise auch die gute Haltbarkeit von Folsäure in konservierten Nahrungsmitteln, in Dosen oder Tiefgefrorenem (*Schorah* et al. 1993).

Die Halbwertszeit der Folsäure im menschlichen Körper beträgt ca. 100 Tage (*Butterworth* und *Bendich* 1996). Mit Hilfe von Vitamin B_{12} (2.2.3) wird Folsäure zu 95 % an Erythrozyten gebunden und zur Leber transportiert, wo etwa 50 % des Gesamtfolats des Körpers gespeichert werden (*Weingärtner* et al. 2003_b). Die Folatausscheidung erfolgt über Harn, Galle und Stuhl (*Snodgrass* 1992), wobei die Niere wesentlich zur Erhaltung des Folatspiegels im Körper durch die Resorptionsmöglichkeit im proximalen Tubulus beitragen kann (*Sikka* und *McMartin* 1998). Untersuchungen von *Czeizel* et al. (1996) zeigten, dass ein durch Antimetaboliten hervorgerufener Folatmangel bei der Ratte vom 9. - 11. Tag der Gestation in 90 % der Fälle Lippenspalten zur Folge hat. *Blount* et al. (1997) fanden heraus, das bei einem Folsäuredefizit Einzelstrang- und Chromosomenbrüche entstehen, welche das Risiko für Krebsentstehung und kognitive Defekte erhöhen könnten. *Heid* et al. (1992) betonen eine höhere teratogene Potenz durch kombinierten Folat-Zink-Mangel gegenüber der Summe der einzelnen Mangelzustände. *Heinz* und *Dierkes* (2004) weisen darauf hin, dass ein möglicher negativer Effekt einer zu hohen Folsäureaufnahme, die Störung der Bioverfügbarkeit und Funktion von Zink und einen damit verbundenen fatalen Ausgang der Schwangerschaft kennzeichnet. *Koletzko* (2005) gibt zu bedenken, dass die natürliche Folatzufuhr aus Lebensmitteln wie Gemüse überwiegend aus Polyglutamatverbindungen besteht und nur zu etwa 50 %

bioverfügbar ist, wohingegen zugesetzte Folsäure als Monoglutamatverbindung nahezu vollständig resorbiert wird. Deshalb erscheint die in vielen Ländern weltweit inzwischen durchgeführte Folsäureanreicherung von Grundnahrungsmitteln auch für die deutsche Bevölkerung unbedingt sinnvoll.

Ebenso von Bedeutung sind mögliche Nebenwirkungen bei exzessiver Aufnahme von Folsäure, wie die Gefahr der kompetitiven Hemmung anderer Nährstoffe. Weiterhin können sich toxische Effekte des Folats in der Entstehung einer Epilepsie äußern und kommen vor allem bei einer Schädigung der Blut-Hirn-Schranke, z.B. durch Autoimmunerkrankungen vor (*Murphy* 1992). *BgVV* und *BZgA* (2001) beschrieben, dass durch Folsäuresupplemente die Wirksamkeit von antiepileptischen Medikamenten vermindert werden kann, was gegebenenfalls eine Anpassung der Dosis nötig macht. Durch dauerhafte Aufnahme einer extrem hohen Dosis Folsäure von 500 mg /kg Lebendmasse konnte *Drescher* (1972) im Tierversuch eine funktionelle Nierenschädigung mit Herabsetzung der glomerulären Filtrationsrate, jedoch ohne erfassbare morphologische Veränderungen beobachten. *BgVV* und *BZgA* (2001) sowie *Heinz* und *Dierkes* (2004) erwähnen die Behebung der durch Vitamin B_{12}-Mangel autretenden Blutbildveränderungen durch Folsäuregabe, bei Erhalt der begleitenden neurologischen Veränderungen, sowie eine damit schwerere Diagnostik. *BgVV* und *BZgA* (2001) weisen gleichzeitig darauf hin, dass ein Vitamin B_{12}-Mangel bei Personen unter 20 Jahren nur sehr selten auftritt. Nach *Hages* (1996) ist bei einem Vitamin B_{12}-Mangel die metabolische Folatverfügbarkeit im Organismus reduziert, da eine wechselseitige metabolische Abhängigkeit durch die gemeinsame Beteiligung an der Homocystein-Methyl-Transferase-Reaktion zwischen dem Folsäure- und Vitamin B_{12}-Stoffwechsel besteht. Bei dieser Reaktion wird Homocystein mit Hilfe von Methyltetrahydrofolsäure und Vitamin B_{12} als Cofaktor zu Methionin methyliert.

Remke (2005) bezeichnet die Folsäurekonzentration in der Gesamtbevölkerung als am unteren Rande der Norm. Jedoch hält er es für zwingend erforderlich, nach den realen Ursachen des Folsäuremangels zu forschen, denn laut seinen Beobachtungen bei Schwangeren oder im Vorfeld der

Schwangerschaft kommt er mit gleicher Häufigkeit wie Spina bifida, Anorexie und Bulimie vor. Der Autor kann sich nicht vorstellen, dass es bei dem hohen Konsum von Joghurt, der hauptsächlich von Frauen verzehrt wird, und bei dem hohen Verbrauch an Nahrungsmitteln wie Sauerkraut oder Bier, in denen die verwertbare Folsäure enthalten ist, bei normalem Essverhalten zu Neuralrohrdefekt auslösenden Folsäuredefiziten kommen kann. So fordert er die Überprüfung einer Koinzidenz von Neuralrohrdefekten und Anorexia nervosa bei Schwangeren (*Remke* 2005).

Weingärtner et al. (2003_c) untersuchten an graviden LEW.1A Ratten Veränderungen von Folsäure und des Vitamin B_{12} im mütterlichen Blut und im Fruchtwasser. Sie beobachteten, dass zur Zeit des Verschlusses des sekundären Gaumens, am 14. Schwangerschaftstag, das Folsäureniveau im Fruchtwasser 73 % geringer als im mütterlichen Blut und am 21. Schwangerschaftstag bereits 80 % niedriger war. Ein Abfall des Vitamin B_{12} in Verbindung mit einer Zunahme des fetalen Homocysteins gilt als Risikofaktor für Gaumenfehlbildungen. Folsäure/ Folate spielen bei allen Zellteilungs- und Wachstumsprozessen eine Rolle. Folsäuremangel kann sich im Körper durch Blutarmut, Verdauungsstörungen und Veränderungen an den Schleimhäuten äußern und kann beim Feten zu einem fehlerhaften Neuralrohrschluss und Störungen der Entwicklung des zentralen Nervensystems führen (*BgVV* und *BZgA* 2001). Beim Menschen treten Neuralrohrdefekte und Gaumenspalten nicht in Verbindung auf. Es gibt Überlegungen, ob ein plazentärer Folsäurerezeptor zum Ausgleich von mütterlichen Folsäuremangelzuständen existiert. (*Weingärtner* et al. 2003_c).

2.2.5 Thiocyanat

Thiocyanat (= Rhodanid /SCN^-) ist eine schwefelhaltige Substanz (Neutral-schwefel), bei der es sich um ein induktiv wirksames Vitaminoid mit guter Wasserlöslichkeit handelt, weshalb es, wie auch die Vitamine B_6, B_{11} und B_{12}, eine bevorzugte Stellung im Stoffwechsel genießt. Es kann schnell über den Verdauungstrakt in den Organismus gelangen und seine Wirkung entfalten (*Weingärtner* et al. 2003_a). Thiocyanat kommt in der Natur ubiquitär vor und wird bis zu 2/3 endogen vom Körper gebildet. Täglich sollten

durchschnittlich 4 - 6 mg SCN^- zugeführt werden. Thiocyanat ist von hoher Bedeutung für die Zelltätigkeit und die Aufrechterhaltung vitaler Funktionen. Erst in den letzten Jahrzehnten wurde seine antimikrobielle Wirkung im Mundbereich und an den sonstigen Eintrittspforten für Krankheitserreger, seine Mitwirkung bei Immunprozessen und die Beteiligung an Membranaktivitäten erkannt (*Weuffen* und *Decker* 2004).

Die Wirkungsmechanismen des Thiocyanats sind zumeist noch nicht geklärt, wohl aber die wesentlichen biologischen Effekte. So hat das Thiocyanat eine medizinische wie auch eine biologische Bedeutung. Durch seine negative Ladung besitzt SCN^- eine besondere Bindungskapazität zu Kationen. Nach *Weingärtner* et al. (2003_a) vermag Thiocyanat Enzyme (z.B. Kollagenase, Na-, K- ATPase) zu aktivieren und die Membranpermeabilität der Zellen zu modellieren. Des Weiteren spielt es eine Rolle bei hormonellen Regulationsmechanismen durch Beeinflussung des cAMP-Stoffwechsels. Die Thiocyanatbildung erfolgt im Thiocyanat-Cyanid-Zyklus. Zudem dient SCN^- als wesentlicher Kofaktor bei der unspezifischen Infektionsabwehr von Peroxidase-H_2O_2-Systemen bei Säugetieren in Speichel, Nasensekret, Tränenflüssigkeit, Milch, Makrophagen sowie in neutro- und eosinophilen Leukozyten.

Nach *Weingärtner* et al. (2003_a) ist ein Zusammenwirken der Folsäure- und Thiocyanatstoffwechselwege für den Knorpel- und Knochenaufbau denkbar. Für Thiocyanat ist eine antiteratogene Wirkung vorstellbar. Besonders hohe SCN^--Konzentrationen konnten in fetalem Haut-, Knorpel-, Knochen- und Muskelgewebe, sowie in der Plazenta nachgewiesen werden. Autoradiographisch wurde eine lokale Anreicherung von Thiocyanat in den Speichel- und Magendrüsen, in der Niere, der Schilddrüse und den Gefäßwänden gefunden (*Weuffen* und *Decker* 2004). *Weuffen* et al. (2003) beschreiben das ubiquitäre Vorkommen von Thiocyanat, als überall dort wo Leben ist oder Leben vorhanden gewesen ist. So kommt Thiocyanat im Boden, sowohl im Küstensand (mit ca. 20 µg/kg) als auch im Niedermoortorf in ca. 5 fach höherer Konzentration vor. Auch im Wasser, in der Luft und in Pflanzen ist Thiocyanat in unterschiedlichen Konzentrationen enthalten. Im Pflanzenreich sind positive Effekte des Thiocyanats wie Förderung des Pflanzenwachstums

und Ertrages, Wundheilung, protektive Wirkung sowie Beschleunigung von Keimung und Wurzelwachstum bekannt (*Weuffen* und *Decker* 2004).

Beim Menschen liegt der durchschnittliche Thiocyanatserumspiegel unter den Bedingungen der heute in modernen Industriestaaten üblichen Ernährung (= Industriekost) bei der etwa 3 mg SCN^- pro Tag aufgenommen werden, bei 3 mg SCN^-/l Serum.

Bei laktovegetabiler Kost oder auch durch bei Rauchern zugeführtes Cyanid können höhere Werte auftreten (bis über 9 mg SCN^-/l Serum). Nach Aufnahme einer nicht tödlichen Cyanid-Dosis ist eine körpereigene Entgiftung durch die Rhodanid-Synthetase (Detoxikation) möglich, wodurch ein erhöhter Thiocyanat-Serumspiegel erklärt werden kann. Im Gegenzug dazu wird, da zwischen Thiocyanat und Cyanid ein metabolisches Gleichgewicht besteht, ein Teil des zugeführten Thiocyanat zu Cyanid und Schwefel metabolisiert. Im Tierversuch beschrieben *Anderson* und *Chen* (1940), dass die Thiocyanatresorption langsam verläuft, da nach oraler Applikation die maximalen Blutspiegel erst nach 6 - 8 Stunden erreicht wurden. Thiocyanat passiert die Plazentaschranke, so dass bezüglich der fetalen Thiocyanatkonzentration ein Wert von etwa 1/3 der mütterlichen Thiocyanatkonzentration festgestellt werden konnte. *Boulos* et al. (1973) bestätigten, das eine iv-Injektion von 20 mg Natriumthiocyanat keinen schädigenden Einfluss auf den Feten hat und *Ivankovic* (1979) ergänzte die nichtteratogene Wirkung. In Untersuchungen von *Weuffen* und *Decker* (2004) wurde herausgefunden, dass etwa 1/3 des Serumthiocyanates vorwiegend an Serumalbumin gebunden wird. Als primären Bindungsort fanden *Pande* und *McMenamy* (1970) am Rinderserumalbumin den Argininrest, sowie als sekundäre Bindungsstelle vermutlich das Lysin und Histidin. Die Thiocyanatelimination erfolgt langsam, vorwiegend renal und in geringem Maße durch Biotransformation. So scheiden beispielsweise Ratten Thiocyanat zu etwa 80 - 95 % in 5 - 14 Tagen renal, weniger als 1 % über die Faeces und den Rest als metabolisiertes CO_2 über die Lunge aus (*Boxer* und *Rickards* 1952). *Jirousek* (1956) erkannte, dass Aminosäuren, wie Arginin, Alanin, Glutaminsäure, Methionin oder Cystein in Dosen von 100 mg/Ratte eine transiente renale Exkretion des Thiocyanat hervorrufen. Über die

Halbwertszeit von Thiocyanat existieren in der Literatur verschiedene Angaben: von 1 - 5 Tagen, jedoch auch 2 - 20 Tagen (*Weuffen* und *Decker* 2004). Die akute letale Thiocyanatdosis beim Tier varriiert in Abhängigkeit von der Spezies und dem Applikationsmodus. *Nichols* (1925) ermittelte für die Ratte eine LD_{50} von 765 mg/kg und für die Maus von 598 mg/kg.

Für den Menschen wird die akute letale Thiocyanatdosis, die großen individuellen Schwankungen unterliegt, mit 0,3 g bis 100 g angegeben (*Weuffen* und *Decker* 2004). Allgemein gilt für Thiocyanat im Gegensatz zu Cyanid eine geringe Toxizität und es ist sogar als vitalisierend anzusehen. Dennoch kann es aufgrund seiner breiten Anwendung beispielsweise in der Fotographie, als Unkrautbekämpfungsmittel, als Textilbeizmittel, als Zündmittel in der Pyrotechnik und bei der Abfallentsorgung Nebenwirkungen am Menschen verursachen. *Weuffen* und *Decker* (2004) beschreiben aufgrund früher durchgeführter Versuche (für die heute obsolete Hypertoniebehandlung mit Thiocyanat) einen SCN^- Spiegel, in Abhängigkeit der Dosis zur Toxizität, von 50 - 120 mg/ml als therapeutischen Bereich, 100 - 200 mg/ml als toxischen und mehr als 200 mg/ml als letalen Bereich. Eine Tagesdosis von 125 mg SCN^- bezeichnen sie als ungefährlich. Bereits nach 10 Tagen alltäglicher Gabe von 250 mg SCN^- ist eine Intoxikation möglich.

Weingärtner et al. (2004) ermittelten, das geringe Dosen von Folsäure und Thiocyanat keinen prophylaktischen Effekt auf die Entwicklung des knöchernen Schädels aufweisen. Bei Verabreichung von Thiocyanat allein, traten unerwartet hohe Spaltraten des sekundären Gaumens auf. Die Kombination von Folsäure und Thiocyanat zeigte einen präventiven Effekt für den primären und sekundären Gaumen. Während der kritschen Wachstumsphase kann nach *Weingärtner* et al. (2004) angenommen werden, dass Thiocyanat als Carrier für teratogene und toxische Substanzen fungieren kann. Das Sulfation SO_4^{2-} gilt als kritisches Zwischenprodukt im Thiocyanatzyklus, welches als wichtiger Baustein für die Synthese von Chondroitin-4-sulfat und Chondroitin-6-sulfat anzusehen ist. Somit ist SCN^- in die Synthese von knorpeligen und knöchernen Substanzen eingebunden und konnte durch *Prott* et al. (1990) in hohen Konzentrationen in der Plazenta sowie in fetalem Knorpel, Knochen, Haut und Muskel gefunden werden.

Liefländer et al. (2006) zeigten, dass die alleinige Thiocyanatapplikation am 14. Trächtigkeitstag bei Ratten keinen Einfluss auf die fetale Knochenreifung ausübt. *Weingärtner* et al. (2004_a) bewerten jedoch eine Verabreichung von thiocyanatreichen Nahrungsmitteln in Kombination mit Procarbazin als höchst kritisch. Die Autoren vermuten, durch die Thiocyanateigenschaften bedingt, einen verstärkten Procarbazineinschub in die Zellen und somit eine stärkere, aber unkontrollierte Wirkungsentfaltung (*Weingärtner* et al. 2004_a).

2.2.6 Glutaminsäure

Die saure, glucogene, nichtessentielle Aminosäure Glutaminsäure wird aus α-Ketoglutarsäure durch reduktive Aminierung unter Katalyse von GLDH gebildet und kommt in fast allen Proteinen vor. Sie wird vorallem in Leber, Niere, Gehirn und Lunge synthetisiert. Glutaminsäure wird durch Glutamat-dehydrogenase zu Iminosäure dehydriert und das entstandene 2-Oxoglutarat findet Verwendung bei der Harnstoffbildung oder beim Abbau im Citratzyklus. Glutaminsäure stellt eine Vorstufe der Biosynthese von GABA, Ornithin (2.2.25), Prolin (2.2.10) und Hydroxyprolin dar und bildet einen Baustein der Folsäure (2.2.4). Glutamat, das Salz der Glutaminsäure, spielt bei Tieren bei der Umwandlung von Aminosäuren ineinander die zentrale Rolle (*Michal* 1999). Bei Tieren entsteht Glutamat vor allem in der Leber, überwiegend durch Transaminierungsreaktionen zwischen 2-Oxoglutarat und Amino-säuren. In Bakterien und den Chloroplasten der Pflanzen wird Glutamat dagegen aus 2-Oxoglutarat und Glutamin (2.2.7) gebildet. Neben dem Einbau in Proteine und Peptide und der Beteiligung an der Glutaminsynthese wirkt Glutamat in zahlreichen Transaminierungsreaktionen als Donor von Aminogruppen zur Biosynthese. So ist Glutamat unter anderem für die Bio-synthesen von Ornithin, Arginin (2.2.24) und Prolin die Ausgangsverbindung. Nach *Mutschler* (2001) und *Michal* (1999) stellt die Glutaminsäure einen der wichtigsten erregenden Neurotransmitter im ZNS dar. Der Glutamatabbau erfolgt beim Menschen hauptsächlich in den Mitochondrien der Leber, kann allerdings auch durch Oxidasen im endoplasmatischen Reticulum der Leber und Nieren stattfinden (*Michal* 1999).

2.2.7 Glutamin

Beim Glutamin handelt es sich um 2-Aminoglutarsäure-5-amid, eine glykogene, nichtessentielle, basische Aminosäure und das Amid der Glutaminsäure (2.2.6). Wir finden Glutamin in den meisten Proteinen und frei in Pflanzensamen. Glutamin dient der Ammoniakentgiftung und als Speichersubstanz im Stickstoffmetabolismus (*Pschyrembel* 1998). Bei Säugern wird Glutamin in den Mitochondrien aller Organe und in den paravenösen Zellen der Leber aus Glutamat und Ammoniak unter Energieverbrauch synthetisiert. Der Glutaminabbau erfolgt direkt durch Einbau in Proteine oder durch Bildung von Glutamat (*Michal* 1999). Die Aminogruppe von Glutamin kann durch Transaminasereaktionen zur Synthese von Aminosäuren, Aminozuckern, NAD, Nucleotiden etc. auf andere Moleküle übertragen werden. *Höcker* et al. (1972) zeigen in ihren Versuchen zur Aminosäurenkonzentration in Plasma und Blutzellen während der Therapie mit Coli-L-Asparaginase, dass durch Glutaminase zur Spaltung gebrachtes Glutamin das Wachstum maligner Zellen hemmen kann.

2.2.8 Alanin

Alanin, auch α-Aminopropionsäure, ist eine nichtessentielle, in nahezu allen Proteinen vorkommende Aminosäure. Bei Tieren ist sie neben Glutamin (2.2.7) ein wichtiger Transportmetabolit für Aminogruppen im Glucose-Alanin-Cyclus (*Michal* 1999).

2.2.9 Asparagin

Asparagin als das Amid der Asparaginsäure ist eine glykogene, nichtessentielle Aminosäure, auch 2-Aminobernsteinsäure-4-amid, die in den meisten Proteinen, sowie frei im Spargel vorkommt. Der exzitatorische Neurotransmitter Aspartat, dem Glutamat (2.2.6) eng verwandt, ist das Salz der Asparaginsäure (*Pschyrembel* 1998). Aspartat ist der Ausgangspunkt wichtiger Biosynthesewege und ist von Bedeutung bei der Pyrimidin- und Inosinmonophosphatbiosynthese, im Harnstoffzyklus im Rahmen von Argininosuccinat, in Bakterien und Pflanzen als erster Schritt der Biosynthese der essentiellen Aminosäuren Methionin (2.2.15), Threonin (2.2.14),

Lysin (2.2.13) und Isoleucin (2.2.19), sowie bei der Pantothenat- und Carnosinbiosynthese bei Bakterien (*Michal* 1999). Der Abbau von Asparagin und Aspartat liefert Oxalacetat durch hydrolytische Spaltung zu Ammoniak und durch Transaminierung mit α-Ketoglutarat zu Glutamat und Oxalacetat. Asparagin entsteht aus Aspartat bei der Reaktion der Asparagin-Ammoniak-Ligase mit Glutamin (2.2.7) und wird im Zytosol oder in den Mitochondrien abgebaut (*Michal* 1999). *Höcker* et al. (1972) stellen in ihren Versuchen zu den Aminosäurekonzentrationen in Plasma und Blutzellen während der Therapie mit Coli-L-Asparaginase fest, dass es neben der Spaltung von Asparagin auch zu einer starken Beeinflussung des gesamten Aminosäurestoffwechsels, mit zum Teil beträchtlichen Konzentrationsänderungen auch anderer Aminosäuren kommt. Sie vermuten eine Beeinflussung der Permeabilität der Erythrozyten- und Leukozytenmembranen mit Auswirkungen auf den Aminosäuren- und Eiweißstoffwechsel.

2.2.10 Prolin

Prolin, auch Pyrrolidin-α-carbonsäure, ist eine nichtessentielle, glykogene Aminosäure mit zyklischem Aufbau und die einzige Aminosäure mit sekundärer Aminogruppe. Der Abbau erfolgt zu Glutaminsäure (2.2.6), Ornithin (2.2.25) oder direkt zu Hydroxyprolin, einem Kollagen- und Elastinbaustein. Hydroxyprolin wird weiter zu Hydroxyglutamat und schließlich zu Pyruvat und Glycin (2.2.12) abgebaut (*Michal* 1999). Bei Ascorbatmangel kann nach *Michal* (1999) nicht ausreichend Prolin hydroxyliert werden und als Folge tritt Skorbut auf, eine Krankheit, die bei Säuglingen und Kleinkindern Störungen des Knochenwachstums bewirkt und zudem zur Brüchigkeit der Blutgefäße, Zahnausfall, Gingivitiden sowie verzögerter Wundheilung führt.

2.2.11 Serin

Die nichtessentielle, in nahezu allen Proteinen vorkommende Aminosäure Serin, auch α-Amino-β-hydroxypropionsäure, ist Bestandteil der Kephaline und Glycerophospholipide und der Ausgangspunkt der Sphingosin- und Ceramidbiosynthese. Serin wird zu Pyruvat abgebaut oder

pyridoxalphosphatabhängig zu Glycin (2.2.12) umgebaut und kann so bei Tieren in Leber und Niere zur Gluconeogenese verwendet werden (*Michal* 1999). Wie auch Glycin leitet sich Serin von 3- Phosphoglycerat ab. Pflanzen und Bakterien können Serin direkt in Cystein (2.2.16) umwandeln, während Tiere Cystein aus Methionin (2.2.15) über das Intermediat Cystathionin (2.2.17) synthetisieren. Zur Umwandlung von Serin und Cystein ineinander ist das Tetrahydrofolat-C_1-Übertragungssystem nötig (*Michal* 1999).

2.2.12 Glycin

Die nichtessentielle Aminosäure Glycin, auch als Aminoessigsäure bezeichnet, ist die einzige nicht optisch aktive Aminosäure und ist in den meisten Proteinen zu finden. Sie gilt neben GABA als wichtigster inhibitorischer Neurotransmitter im Rückenmark und Hirnstamm (Kontrolle der Motorik). Sowohl die Glycinsynthese als auch der Glycinabbau laufen unter Beteiligung von THF (2.2.4) vor allem über Serin (2.2.11). In Abwesenheit von THF katalysiert Threonin (2.2.14) zu Glycin und Acetaldehyd. Durch Übertragung des Guanidinrestes von Arginin (2.2.24) auf Glycin werden bei Vertebraten Citrullin (2.2.26) und Phosphokreatin gebildet. Phosphokreatin vergrößert die Menge an schnell verfügbarer Energie besonders in der Skelettmuskulatur, aber auch in Herz und Gehirn, weniger in anderen Geweben. Zudem ist Glycin Bestandteil im Betain- und Sarcosinstoffwechsel (*Michal* 1999).

2.2.13 Lysin

α, ε-Diaminocapronsäure, auch als Lysin bezeichnet, ist eine basisch hydrophile, ketogene, essentielle Aminosäure, die vor allem in tierischen, weniger in pflanzlichen, Proteinen (z.B. Myosin, Kollagen, Histone) vorkommt. Der Tagesbedarf an Lysin variiert vor allem altersabhängig zwischen 64 mg/kg Körpergewicht (bei Kindern) und 30 mg/kg Körpergewicht bei Erwachsenen (*Tomè* und *Bos* 2007). Lysin ist im Katalysemechanismus bei verschiedenen enzymatischen Umsetzungen beteiligt (z.B. bei Transaminasen) (*Michal* 1999). Die Aminosäure Lysin verhält sich metabolisch verhältnismäßig inert, so dass sie bei hohem Angebot über

Allysin, einer Zwischensubstanz bei Seitenkettenmodifizierung von Kollagen und Elastin sowie 2-Oxo-adipinat zu Crotonyl-CoA abgebaut wird. Hierbei findet Lysin Anschluss an die β-Oxidation der Fettsäuren. Der Lysinabbau findet im Mitochondrium durch irreversible Transaminierung statt. Lysin bildet mit α-Ketoglutarat eine Schiff-Base aus, wobei Saccharopin entsteht, welches in der Leber über Pipecolinsäure zu Acetoacetyl-CoA und Acetyl-CoA abgebaut wird. Die Lysinsynthese kann auf zwei Wegen erfolgen: beim Diaminopimilatweg entsteht das Kohlenstoffgerüst des Lysins aus Pyruvat und Aspartat, beim α-Aminoadipatweg aus alpha-Ketoglutarat und Acetat. Bei Grünalgen, Farnen und höheren Pflanzen wird der erste Weg beschritten, während bei einigen grünen Flagellaten (Euglenophyta) sowie bei Pilzen der zweite Weg eingeschlagen wird (*Michal* 1999). Das Hydroxylderivat des Lysins ist Kollagenbestandteil. Lysin wird auch als Vorstufe von Carnitin, das für den Fettsäureimport wichtig ist, diskutiert, wobei dies noch nicht eindeutig geklärt ist. *Aly* (1976) hebt die Bedeutung einer ausgeglichenen Relation von essentiellen Nahrungsbestandteilen hervor und beschreibt bei Ungleichgewichten Störungen des Wachstums und spezieller Stoffwechselfunktionen. Im Rahmen von Versuchen an weißen Ratten nach hochdosierten Gaben von Lysin und Methionin (2.2.15) vermutete *Aly* (1976) aufgrund glatter Konturen der Gehirnoberfläche eine verzögerte Entwicklung der Feten. Zudem ergab sich eine schwere Geburt mit starker zeitlicher Verzögerung (4 bis 8 Stunden) und erheblichen Blutungen nach extremer Zulage von Lysin beziehungsweise von Methionin. Bereits auf die Gewichtsentwicklung der Muttertiere wirkt sich sowohl eine Mangelration als auch eine Aminosäurezulage im Gegensatz zur vollwertig ernährten Kontrollgruppe negativ aus, so *Aly* (1976). Mit zunehmender Trächtigkeitsdauer (> 20. Trächtigkeitstag) konnte der Autor vor allem bei erhöhter Methioninzulage eine Tendenz zur relativen Verringerung des Plazentagewichtes beschreiben. Ebenso zeigten sich Schwankungen der Wurfgröße und des Fetaleinzelgewichtes unter erhöhtem Aminosäureeinfluss. Am Tag der Geburt lagen die Fetalgewichte nach erhöhter Leucin- (2.2.18), Lysin- und Methioningabe sogar unterhalb der Fetalgewichte aus einer Mangelgruppe (*Aly* 1976). Weiterhin sprechen die Versuche von *Aly* (1976) nach erhöhter Lysin- und Methioningabe für

häufigen embryonalen Frühtod und Fruchtresorption, die jedoch noch extremer unter Mangelbedingungen auftraten. Unter erhöhter Lysinzufuhr konnten vereinzelt Gesichtshypoplasien, Nabelbrüche, Totgeburten, unterentwickelte Gehirne und Köpfe bei weißen Ratten des Stammes Wistar AF beobachtet werden (*Aly* 1976).

2.2.14 Threonin

Die essentielle Aminosäure Threonin, auch α-Amino-β-hydroxybuttersäure, kommt in den meisten Proteinen vor und wird zu CoA- aktivierter Propionsäure oder zu Glycin (2.2.12) und Acetaldehyd abgebaut. Neben Lysin (2.2.13), Methionin (2.2.15) und Cystein (2.2.16) entsteht auch Threonin aus Aspartat (2.2.9). Threonin ist (neben Pyruvat) ein Vorläufer von Isoleucin (2.2.19). Bei der Threoninbiosynthese isomerisiert Homoserin zu Threonin (*Michal* 1999).

2.2.15 Methionin

Die essentielle Aminosäure Methionin, auch α-Amino-γ-methylmercaptobuttersäure, kommt in vielen Proteinen vor. Sie gilt als wichtigster physiologischer Lieferant von Methylgruppen und neben Cystein (2.2.16) auch von Schwefel. Unter erhöhter Methioninzulage konnte *Aly* (1976) an Ratten Totgeburten und kleine Tiere mit weniger entwickelten Gehirnen beobachten. Wie auch nach erhöhter Lysingabe (2.2.13) konnte der Autor u. a. Veränderungen bezüglich der maternalen Gewichtsentwicklung, des Plazentagewichtes, der Wurfgröße sowie der Fetalentwicklung nachweisen. Die Biosynthese von Methionin (wie auch von Lysin und Threonin (2.2.14)) beginnt mit der Phosphorylierung von Aspartat (2.2.9). Durch Transsulfurierung mit Cystein (2.2.16) entsteht Cystathionin (2.2.17), welches zu Homocystein (2.2.2) gespalten wird. Dieses wird anschließend zu Methionin methyliert. Methionin hat herausragende Bedeutung bei der Proteinbiosynthese, denn sie ist die zuerst eingebaute Aminosäure (*Michal* 1999).

2.2.16 Cystein

Die nichtessentielle Aminosäure Cystein, auch 2-Amino-3-mercapto-propansäure, verkörpert eine zentrale Verbindung des Schwefelstoff-wechsels im Körper und kommt in den meisten Proteinen vor. Cystein bildet Disulfidbrücken zwischen Proteinketten und wird leicht zu Cystin oxidiert. Pflanzen und Bakterien können Cystein aus Serin (2.2.11) bilden, wohin-gegen Tiere Homocystein (2.2.2) aus dem Abbau von Methionin (2.2.15) be-nötigen, um Cystein über das Intermediat Cystathionin (2.2.17) zu synthetisieren (*Michal* 1999). Die Thiolgruppe des Cysteins ist in Enzymen an einer Reihe von enzymatischen Reaktionsmechanismen beteiligt, bildet FeS-Zentren in Elektronenübertragungsproteinen, die z.B. bei Atmung und Photo-synthese Bedeutung haben. Das Disulfid Cystin spielt eine entscheidende Rolle bei der Bildung und Aufrechterhaltung der Sekundärstruktur von Proteinen. Erwähnenswert hält *Michal* (1999) die Oxidation von Cystein durch Luftsauerstoff, welche eine häufige Ursache für die Inaktivierung von Proteinen darstellt. Therapeutische Anwendung findet Cystein als Bestandteil in Infusionslösungen und zur Strahlenschädenprophylaxe. Beim Abbau von Cystein werden Taurin (2.2.28) oder auch Pyruvat gebildet (*Michal* 1999). Für Feten und Frühgeburten ist Cystein eine essentielle Aminosäure. Zudem ist in menschlichen Feten die Cystathionasereaktivität in der Leber nicht nachweisbar. Ein Defekt der Cystathioninsynthase oder Cystathionase führt zur Störung des Cysteinstoffwechsels (*Löffler* und *Petrides* 1998).

2.2.17 Cystathionin

Die Aminosäure Cystathionin ist ein Stoffwechselzwischenprodukt des Methioninstoffwechsels, in dem es nach der Desaminierung des Methionins (2.2.15) durch die Cystathionase zu Cystein (2.2.16) und α-Ketoglutarat durch Transsulfurierung gebildet wird. Das Spaltprodukt von Cystathionin ist Homocystein (2.2.2) (*Michal* 1999).

2.2.18 Leucin

Die essentielle, ketogene Aminosäure Leucin kommt in allen Proteinen vor. Ihre Abbauprodukte sind Acetoacetat und Acetyl-CoA. Der Biosyntheseweg

von Leucin ist eng mit dem von Isoleucin (2.2.19) und Valin (2.2.20) verwandt und entspricht den ersten drei Schritten des Citratzyklus (*Michal* 1999). Diese drei Aminosäuren regulieren einander und wirken vielfach antagonistisch. Wir finden sie bei Tieren statt in der Leber vor allem in peripheren Organen wie dem Herzmuskel und der Niere vor. Erwähnenswert ist die Ahornsirupkrankheit, der ein Enzymdefekt zugrunde liegt und die ohne Behandlung mit einer geeigneten Diät zu gravierenden Störungen des ZNS und einem frühen Tod führen kann (*Michal* 1999). *Aly* (1976) konnte nach erhöhter Leucinzufuhr Fehlbildungen an den Rippen und dem Wirbelkanal bei Ratten beobachten.

2.2.19 Isoleucin

Isoleucin ist eine keto- und glukogene, essentielle Aminosäure mit den Abbauprodukten Acetyl-CoA und Succinyl-CoA. Ihr Kohlenstoffgerüst stammt vom Pyruvat und Threonin (2.2.14) ab. Der Biosyntheseweg von Isoleucin ist eng mit dem von Leucin (2.2.18) und Valin (2.2.20) verwandt (*Michal* 1999).

2.2.20 Valin

Die essentielle, rein glukogene Aminosäure Valin ist in nahezu allen Proteinen zu finden. Valin wird über CoA-aktivierte Methylmalonsäure zu Succinyl-CoA abgebaut. Der Biosyntheseweg des Valins ist eng mit dem von Leucin (2.2.18) und Isoleucin (2.2.19) verknüpft (*Michal* 1999).

2.2.21 Tyrosin

Tyrosin, eine nichtessentielle, aromatische Aminosäure kommt in nahezu allen Proteinen vor und entsteht im Stoffwechsel durch Hydroxylierung von Phenylalanin (2.2.22). Tyrosin gilt als Vorstufe für die Biosynthese von Dopamin, Adrenalin, Thyroxin und Melanin. Der Abbauweg endet beim ketogenen Acetoacetat oder auch beim glucogenen Fumarat. Bei Decarboxylierung des Tyrosins ohne vorhergehende Hydroxlierung entsteht die blutdruckerhöhende Substanz Tyramin (*Michal* 1999). *Herms* et al. (1974) untersuchten die Aminosäureverteilung in der trächtigen Wistar- Ratte nach intravenöser, intraamnialer und intrafetaler Applikation von ^{14}C-L-Tyrosin

zwischen dem 18. und 21. Trächtigkeitstag, welcher beim Menschen mit der 35. - 40. Schwangerschaftswoche vergleichbar ist. Nach intravenöser Applikation konnten *Herms* et al. (1974) bereits nach 10 Minuten 0,9 % der injizierten Dosis in einer feto-plazentaren Einheit nachweisen. Nach 2 Stunden konnten insgesamt 14 % der injizierten Dosis von sämtlichen feto-plazentaren Einheiten aufgenommen werden. Ebenso war nach intraperitonealer Applikation der größte Teil des ^{14}C-L-Tyrosins nach 2 Stunden in der feto-plazentaren Einheit nachweisbar. Nach intraamnialer Applikation wies nach 2 Stunden das Fruchtwasser den größten Teil des ^{14}C-L-Tyrosins auf. Radioaktivitäten konnten zu einem hohen Teil in Feten und Fruchtwasser, in geringeren Mengen im Muttertier gefunden werden.

Stärkere ^{14}C-L-Tyrosin-Konzentrationen im Feten wurden insbesondere in Organen festgestellt, die eine hohe Proteinsynthese aufweisen. So enthielten die Augenlinse, die Niere, die Haut, der Gastrointestinaltrakt, der Pankreas und die Nebenniere stärkere ^{14}C-L-Tyrosin-Konzentrationen (*Herms* et al. 1974). Da dies für die Lunge nicht beobachtet werden konnte, wird davon ausgegangen, dass die ^{14}C-L-Tyrosin-Aktivität entweder über die Haut (*Bor* et al. 1970) oder durch Schlucken von Fruchtwasser (*Pritchard* 1966; *Delecour* et al. 1970) in den Fetusmagen gelangt.

2.2.22 Phenylalanin

Die essentielle, aromatische Aminosäure Phenylalanin, auch α-Amino-β-phenylpropionsäure, kommt in nahezu allen Proteinen vor und wird durch Hydroxylierung zu Tyrosin (2.2.21) abgebaut. Der erste Teil der Phenylalaninbiosynthese ist mit dem der Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan identisch. Ebenso werden alle Aminosäuren zu ketogenem Acetoacetat abgebaut, wobei aus Phenylalanin auch glucogenes Fumarat gebildet wird. Von genannten Aminosäuren oder ihren Vorstufen stammen NAD, NADP und eine Reihe wichtiger biogener Amine und Chinonverbindungen ab. Durch Hydroxylierung von Tyrosin entsteht Dihydroxyphenylalanin (Dopa), aus welchem Dopamin gebildet wird, ein Neurotransmitter, der bei ungenügender Versorgung der Substantia nigra im Mittelhirn zum Parkinson-Syndrom führt.

Durch weitere Hydroxylierung entstehen die wichtigen Hormone Noradrenalin und Adrenalin. Dopa wandelt sich auch in Dopachinon und letztendlich zu Melanin, ohne welches Albinismus auftreten würde. Der Phenylalaninabbau beginnt bei Tieren mit der Umwandlung zu Tyrosin. Bei Störungen des zur Anwendung kommenden Monooxygenase-Systems zeigt sich die Phenylketonurie, eine beim Menschen mit einer Häufigkeit von etwa 1:10000 auftretende Erbkrankheit, die mit Störungen der neuronalen Entwicklung einhergeht (*Michal* 1999).

2.2.23 Histidin

Die essentielle, basisch hydrophile, aromatische α-Amino-β-imidazolpropionsäure, auch Histidin, ist ein Imidazolylderivat von Alanin (2.2.8). Beim Abbau von Histidin entsteht α-Ketoglutarat, wobei das erste Stickstoffatom als Ammoniak abgespalten wird und das zweite gemeinsam mit einem Kohlenstoffatom als Formiminogruppe von Tetrahydrofolat (2.2.4) übernommen wird. Durch Decarboxylierung, die pyridoxalphosphatabhängig (Vitamin B_6) ist, wird aus Histidin das biogene Amin Histamin. Dies erfolgt in fetalem Gewebe und in der Plazenta durch die Histidindecarboxylase. Histamin ist notwendig zur Kontraktion glatter Muskelzellen im Respirations- und Gastrointestinaltrakt sowie zur NO-Freisetzung, welches eine Relaxation der glatten Muskelzellen ermöglicht. In der Magenmukosa führt Histamin zu vermehrter Magensäurefreisetzung. Die Histaminbildung erfolgt in Mastzellen und vielen Gewebezellen. Bei der IgE-vermittelten Überempfindlichkeitsreaktion vom Soforttyp, welche Bronchokonstruktion, NO-Freisetzung und Gefäßerweiterung bewirkt, wird die Bedeutung von Histamin offensichtlich. In Form von 3-Methylhistidin ist Histidin in Aktin und Myosin der weißen Muskelfasern vertreten. Wenn die Histidinzufuhr durch die Nahrung unzureichend ist, kann der Reservestoff Carnosin, ein Dipeptid, welches aus Histidin und β-Alanin synthetisiert wird und in großen Mengen in den Muskeln vorkommt, Histidin für den Organismus bereit stellen (*Michal* 1999). In Bakterien und Hefe weist die Histidin-Biosynthese enge Verbindungen mit dem Purin-Stoffwechsel auf. Beim Abbau von Histidin entstehen Urocanat und letztendlich durch Übertragung der Formiminogruppe des

Formiminoglutamats auf Tetrahydrofolat Glutamat (2.2.6). Bei Folatmangel tritt Formiminoglutamat in den Urin über (*Michal* 1999).

2.2.24 Arginin

Hierbei handelt es sich um die nichtessentielle, proteinogene, basisch hydrophile α-Amino-δ-guanidinvaleriansäure mit dem Trivialnamen Arginin. Sie stammt von Valeriansäure ab, bei der ein Wasserstoffatom durch eine Guanidinogruppe ersetzt ist. Durch hydrolytische Spaltung der C-N-Bindung des Arginins durch Arginase entstehen Harnstoff und die nicht proteinogene Aminosäure Ornithin (2.2.25). Arginin entsteht gemeinsam mit Fumarat reversibel im Aspartatzyklus, wobei die Carbonylgruppe von Citrullin (2.2.26) mit der Aminogruppe von Aspartat (2.2.9) unter Bildung von Argininosuccinat kondensiert und anschließend deren C-N-Bindung durch Argininosuccinat-lyase gespalten wird. Arginin ist die Vorstufe von Stickstoffmonoxid (NO), welches auch als Endothelrelaxierender Faktor bezeichnet wird. Unter Freisetzung von Citrullin wird aus Arginin durch die NO-Synthase das farblose Gas NO gebildet. Zudem ist Arginin an der Biosynthese von Kreatin beteiligt. Arginin, Lysin (2.2.13) und Ornithin zählen zu den Diaminomonocarbonsäuren und spielen augrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit eine große Rolle bei der Cystinurie, bei der die renale Cystinausscheidung (2.2.16) bis auf das 20 bis 30 fache der Norm erhöht ist. Alle vier Aminosäuren nutzen ein gemeinsames Transportsystem. Durch Decarboxylierung entstehen aus Arginin bzw. Ornithin im Darm Putrescin und Cadaverin, welche wie auch Homocystein (2.2.2) vermehrt ausgeschieden werden. Ursache des Defektes sind Mutationen des rBAT-Gens, das für den Cystintransporter codiert (*Löffler* und *Petrides* 1998). Die Ausgangsverbindung für die Biosynthese von Ornithin und Arginin stellt das N-Acetyl-Glutamat dar, welches durch die Kondensation von Glutamat mit Acetyl-CoAgebildet wird. Nennenswerte Krankheiten, die durch Defekte der Harnstoffzyklusenzyme entstehen sind in Zusammenhang mit Arginin die Citrullinurie, Argininosuccinat-Azidurie und die Argininämie (*Michal* 1999).

2.2.25 Ornithin

Die basische, nichtproteinogene Aminosäure Ornithin, auch α, δ-Diaminovaleriansäure, entsteht neben Harnstoff durch Abspaltung der Guanidinogruppe von Arginin (2.2.24) durch Arginase im Harnstoffzyklus. Ornithin reagiert mit Carbamylphosphat zu Citrullin (2.2.26) durch Ornithincarbamyltransferase. Bei Enzymmangel tritt eine x-chromosomale Störung der Harnstoffsynthese auf, die mit einer Hyperammonämie verbunden ist und zur Folge hat, dass männliche Hemizygote meist wenige Tage nach der Geburt sterben (*Mutschler* 2001). Die Arginaseaktivität ist hoch aktiv in Leber, Hoden, Haut, Nieren, Brustdrüsen, Gehirn, Erythrozyten sowie neutrophilen Leukocyten und kann durch Lysin (2.2.13) gehemmt werden. Die Ornithinbildung erfolgt auch bei der Glutamatsynthese, wobei Glutamat als Vorstufe von Glutamin (2.2.7), Prolin (2.2.10) und Arginin zählt.

Pathobiochemisch interessant ist die Ornithinämie, ein seltener autosomalrezessiver Stoffwechseldefekt, bei dem die Ornithinbildung mit folgender Nachtblindheit, Gesichtsfeldeinschränkung ab dem 20. Lebensjahr und späterer Blindheit gestört ist. Beim Menschen sind Aktivitäten der Harnstoffzyklusenzyme bereits im 4. oder 5. Schwangerschaftsmonat nachweisbar (*Löffler* und *Petrides* 1998). Durch Ornithindecarboxylierung entsteht das Diamin Putrescin, aus welchem durch das Anfügen von einem oder zwei Propylaminoresten Spermidin bzw. Spermin gebildet werden, die wir besonders in Zellen mit hoher Teilungsgeschwindigkeit finden. Spermidin und Spermin gelten als essentielle Wachstumsfaktoren und haben möglicherweise die biologische Funktion der DNA-Stabilisierung. Zudem wirken sie verstärkend auf die RNA-Synthese und erhöhen die Stabilität von t-RNA und Ribosomen (*Michal* 1999).

2.2.26 Citrullin

Citrullin gehört zu den basischen, nichtproteinogenen Aminosäuren und ist ein Intermediärprodukt im Harnstoffzyklus, auch Krebs-Henseleit-Cyclus genannt. Es entsteht durch die Kondensationsreaktion mit der Aminosäure Ornithin (2.2.25) in den Mitochondrien der Leber. In einer ATP-abhängigen Reaktion mit Aspartat (2.2.9) wird Argininosuccinat synthetisiert, welches

wiederum in die Aminosäure Arginin (2.2.24) und Fumarat gespalten wird. Ein Defekt der Argininosuccinat-Synthase ist mit einer Citrullinurie verbunden. Citrullin ist zudem neben Guanidinoacetat ein Reaktionsprodukt, welches bei der Reaktion von Arginin und Glycin (2.2.12) zu der sehr energiereichen Verbindung Phosphokreatin gebildet wird (*Michal* 1999).

2.2.27 Butyrat

Hierbei handelt es sich um eine gesättigte, nichtessentielle Monocarbonsäure oder auch das Salz der Buttersäure. Butyrat ist ein Substrat für den Stoffwechsel der Dickdarmmukosa und spielt eine Rolle bei der Gärung (*Löffler* und *Petrides* 1998).

2.2.28 Taurin

Taurin ist eine nichtproteinogene, nichtessentielle Aminosulfonsäure und ist das Endprodukt der Verstoffwechselung von Methionin (2.2.15) und Cystein (2.2.16) (*DGE* 2001). Taurin gilt als Konjugationspartner von Gallensäuren in Form von Taurocholsäure (*Michal* 1999) und ist somit an der Absorption fettlöslicher Nahrungsinhaltsstoffe beteiligt (*DGE* 2001). Taurin kommt beispielsweise in der Retina, im Gehirn und in Lymphozyten vor. Möglicherweise, nach *Michal* (1999) besitzt Taurin eine entgiftende und membranschützende Wirkung. Nach der *DGE* (2001) wird Taurin unter Beteiligung von Vitamin B_6 bevorzugt in Leber und Gehirn gebildet. Die pro Tag synthetisierte Menge von 50 - 125 mg reicht aus, um den Bedarf zu decken. Die im Körper eines gesunden Erwachsenen gespeicherte Taurinmenge liegt bei 12 - 18 g. Da die meisten Gewebe Taurin entgegen eines Konzentrationsgradienten aus dem Blut aufnehmen, ist der Plasmaspiegel kein Indikator für den Gehalt in der Zelle. Die höchsten Taurinkonzentrationen finden wir in Fisch (Thunfisch in Konserven 70 mg/100 g), gefolgt von Fleisch (Lamm- und Schweinefleisch 50 mg/100 g, Rindfleisch und Geflügel 35 mg/100 g) und Milch (5 mg/100 g), wohingegen pflanzliche Erzeugnisse kaum zur Taurinzufuhr, welche bei gemischter Kost täglich bei mindestens 200 mg liegt, beitragen. Taurin gilt als endogen antioxidative Substanz, welche das Zellvolumen und den Calciumeinstrom in die Zelle reguliert sowie

membranstabilisierende, neuro- und kardioprotektive Wirkungen haben soll (*DGE* 2001). Mit zunehmendem Alter nimmt die hohe Taurinkonzentration im Gehirn, in welchem Taurin inhibitorische Eigenschaften und eine enge funktionelle Beziehung zur ebenfalls inhibitorisch wirkenden γ-Aminobuttersäure (GABA) hat, ab. Begünstigend auf die Abnahme der Taurinkonzentration in den betroffenen Organen wirken hyposmotischer Stress, Hyperammonämie, Hypoxie, Hyperthermie und NO-Anstieg. Anhand von Tierversuchen und in-vitro-Versuchen gibt es Hinweise auf zahlreiche Nebenwirkungen des Taurins, wenn es in höheren Konzentrationen appliziert wird. Taurin reichert sich vor allem im Gehirn (Hypothalamus und Medulla) an und kann zur Herabsetzung der Atemfrequenz und der CO_2-induzierten respiratorischen Antwort, zur Beeinträchtigung der (Ausdauer-) Leistungsfähigkeit, vermutlich auch zur Störung der inhibitorischen und exzitatorischen Regelkreise im Gehirn führen und scheint ebenso in die Mechanismen bei zerebralen Krampfanfällen involviert zu sein (*DGE* 2001). Zudem wird das Trinkverhalten von Mäusen durch Applikation von Taurin in höheren Konzentrationen negativ verändert und in Ratten wurde eine Potenzierung der Neurotoxizität durch Taurin beschrieben. Des Weiteren korrelieren die Transportsysteme für die exzitatorisch wirkenden schwefelhaltigen Aminosäuren negativ mit dem hochaffinnen Transport von GABA und Taurin (Membrantransport in zerebrokorticalen Synapsen). Die Werbung suggeriert, dass Taurin als Bestandteil von „Energy Drinks“ beim Menschen sowohl die körperliche als auch die geistige Leistungsfähigkeit fördere. Aufgrund der bestehenden gravierenden Nebenwirkungen ist von einer zusätzlichen Taurinaufnahme derzeit sogar abzuraten (*DGE* 2001).

3 Material und Methoden

3.1 Material

Als Untersuchungsmaterial wurden Laborratten des Inzuchtstammes LEW.1A eingesetzt. Dabei handelte es sich um Versuchstiere beider Geschlechter, wobei die männlichen Ratten lediglich der Deckung der erstgebärenden Weibchen dienten. Die Tiere wurden bei einer Temperatur von 22 °C bis 24 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 50 % bis 60 % geräuschisoliert in Gruppen bis zu 4 Versuchstieren in Kunststoffschalen der Größe K3 mit Metallgitteraufsätzen gehalten. Hierbei erfolgte, bis auf den einmalig vierstündigen Paarungszeitraum, eine generelle Trennung zwischen männlichen und weiblichen Tieren. Die Reinigung der Käfige wurde zweimal wöchentlich unter Verwendung von Einstreu aus getrockneten, nichtkontaminierten Kiefernhobelspänen vorgenommen. Die Ratten unterlagen einem Tag-Nacht-Rhythmus, wobei die Dunkelphase zwischen 13.00 Uhr und 1.00 Uhr lag. Die Fütterung der Versuchstiere erfolgte ad libitum mit Wasser sowie durch pelletiertes V-Alleinfutter für Rattenzucht der Firma ssniff-Spezialdiäten GmbH mit folgender Zusammensetzung (auf 15 kg): 21 % Rohprotein, 3,8 % Rohfett, 4,4 % Rohfaser, 6,7 % Rohasche, 1,2 % Lysin, 0,4 % Methionin, 1 % Calcium, 0,7 % Phosphor, 0,2 % Magnesium, 0,25 % Natrium sowie als Zusatzstoffe 4,5 mg Vitamin A, 0,025 mg Vitamin D_3, 100 mg Vitamin E.

3.2 Methoden

Die weiblichen Versuchstiere mit einer Lebendmasse ab ca. 200 - 210 g waren erstgebärend und vor der Paarung mit den männlichen Versuchstieren mindestens 2 Wochen mit weiblichen Ratten unter Versuchsbedingungen isoliert, um sich an die bestehenden Bedingungen anzupassen. Drei Tage vor Begattung wurde den Kunststoffschalen mit Metallgitteraufsätzen Bockmist zugefügt, welcher nach bisherigen Erfahrungen durch Zyklussynchronisation bzw. -induktion zu einem um etwa 30 % bis 40 % erhöhten

Befruchtungserfolg führen soll. Zur Paarung wurde zu zwei Weibchen ein männliches Tier für einmalig vier Stunden (18.00 Uhr bis 22.00 Uhr) beigegeben. Der Tag, an welchem bei einer weiblichen Ratte im Vaginalabstrich per Lichtmikroskop Spermien nachgewiesen werden konnten, galt als Versuchsbeginn oder Tag 1.

Die Versuchstiere wurden in insgesamt sieben verschiedene Gruppen eingeteilt, welche mindestens je 10 Tiere enthielten. Zum Vergleich diente eine unbehandelte Kontroll- Gruppe (K). Die Behandlungsgruppen sahen wie folgt aus:

Kontrollgruppe	K
Folsäure und Natulan®-Gruppe	FN
Thiocyanat und Natulan®-Gruppe	TN
Folsäure, Thiocyanat und Natulan®-Gruppe	FTN
Folsäure-Gruppe	F
Thiocyanat-Gruppe	T
Natulan®-Gruppe	N

Die Kontrollgruppe K erhielt keinerlei Nahrungszusätze, sondern nur das bereits genauer beschriebene V-Alleinfutter für Rattenzucht der Firma ssniff-Spezialdiäten GmbH und Wasser (=Standardfutter). Mit dem Standardfutter wurden die Tiere aller Gruppen versorgt.

Gruppe FN erhielt zusätzlich Folsäure und Natulan®.

Den Versuchstieren der Gruppe TN wurden neben dem Standardfutter Thiocyanat und Natulan® verabreicht.

Der Gruppe FTN wurden alle Zusätze, also Folsäure, Thiocyanat und Natulan® gegeben.

Lediglich Folsäure als Beigabe erhielten die Ratten aus Gruppe F.

Thiocyanat wurde den Versuchstieren aus der Gruppe T verabreicht und mit Natulan® als Zusatz zum Standardfutter wurden die Tiere der Gruppe N gefüttert.

Die im Rahmen der Versuche geplante Medikamentengabe an die gedeckten weiblichen Tiere ereignete sich jeweils um 7.00 Uhr wie folgt:

- Folsäure (Folsäure forte-Hevert®, Fa. Hevert Arzneimittel) wurde in einer Dosis von 0,016 mg/100 g Lebendmasse an die Tiere der Gruppen FN, FTN und F am 1., 4., 7., 10., 13., 16. und 19. Trächtigkeitstag subkutan per injektionem (Einwegspritze) verabreicht.
- Thiocyanat (SCN^-) bekamen die Versuchstiere der Gruppen TN, FTN und T am 10. und 13. Trächtigkeitstag subkutan per injektionem in einer Dosis von 3,2 mg/100 g Lebendmasse.
- Natulan® mit dem Wirkstoff Procarbazin (Natulan®, Fa. Sigma-Tau Arzneimittel) erhielten die Tiere der Behandlungsgruppen FN, TN, FTN und N am 14. Trächtigkeitstag intraperitoneal per injektionem in einer Dosis von 20 mg/100 g Lebendmasse.

Nach Beendigung des gruppenspezifischen Behandlungsablaufs erfolgte am 21. Trächtigkeitstag die Tötung der Mütter und die Schnittentbindung der Jungtiere durch Hysterektomie. Die Narkotisierung der Muttertiere mit anschließender Euthanasie erfolgte mit Ether. Je Muttertier wurden 3 Feten entnommen, die Lebendmassen bestimmt sowie deren Köpfe im Rahmen des weiteren Versuchsablaufs auf Spaltbildungen hin überprüft.

Zudem wurden am 21. Trächtigkeitstag Amnionpunktionen als Sammelprobe von allen Feten einer Mutter und anschließend die Bestimmung der Folsäure- (Chemilumiszenzverfahren), Vitamin B_{12}- (Mikropartikel-Enzym-immuno-assay) und Homocysteinspiegel (HPLC-Verfahren) durchgeführt.

3.3 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der ermittelten Ergebnisse erfolgte unter Zuhilfenahme des t-Tests und des SPSS-Programms. Hierbei wurden die Mittelwertvergleiche sowie Standardabweichungen für jeden Parameter und die Korrelationsbeziehungen zwischen Amnionflüssigkeit und Kopfparametern bestimmt. Die Abweichung eines Parameters wurde als statistisch signifikant eingestuft, wenn eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0{,}05$ nachgewiesen werden konnte.

4 Ergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse, die sich auf die Behandlungsgruppen FN, TN, FTN, F, T, N und die unbehandelte Kontroll- Gruppe K verteilen, sind für jeden einzelnen Parameter in den Abbildungen (3 bis 30) dargestellt. Hierbei sind jeweils die Konzentrationen der untersuchten Vitamine und Aminosäuren sowie des Vitaminoids Thiocyanat (2.2.5) in µmol/l am 21. Trächtigkeitstag in der Amnionflüssigkeit der LEW.1A Ratte dargestellt. In Abbildung 30 findet die Lebendmasse Berücksichtigung.

In den folgenden Abbildungen (3 bis 30) sind die resultierenden Mittelwerte für jeden Parameter in Abhängigkeit der Behandlungsgruppen aufgelistet. Die Kontrollgruppe K ist zur besseren Abgrenzung von den sechs Behandlungsgruppen heller abgebildet.

Die Säulen sind Gruppen zugeordnet und je höher der Mittelwert, umso höher die Säule. Signifikante Unterschiede im Mittelwertvergleich zu anderen Gruppen sind graphisch so gelöst, dass in der Säule dann die andere Gruppe eingetragen wurde, bei $p \leq 0{,}05$. Signifikante Unterschiede $p \leq 0{,}01$ wurden durch einen Unterstrich hervorgehoben. Zudem sind die Korrelations-koeffizienten für jeden untersuchten Parameter in Tabellenform (Tabelle 1 bis 28 unmittelbar nach der jeweiligen, dazugehörigen Abbildung bzw. Tabelle 1 bis 35 im Anhang) dargestellt. Die gleichen Darstellungsformen finden für die Tabelle 35 Mittelwerte mit Standardabweichungen (Anhang) Anwendung.

Die Anzahl der Versuchstiere ist durch das Zeichen „*“ gekennzeichnet und neben der jeweiligen Gruppe abgebildet. Hierbei werden signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen hinter dem jeweiligen Mittelwert mit einem exponentiellen Buchstaben (a bis g) dargestellt. Jeder Buchstabe entspricht einer Spalte und damit einer Behandlungsgruppe.

4.1 Vitamine, Homocystein und Thiocyanat

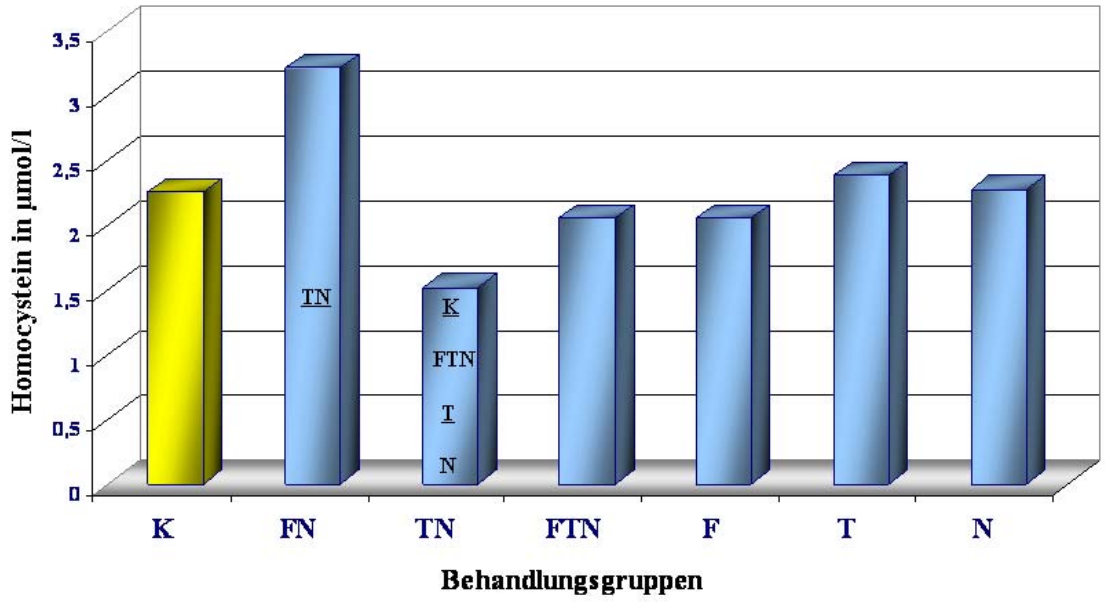

Abb. 3: Homocysteinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,150	**0,016**	0,517	0,617	0,675	0,961
FN	* * *	* * *	**0,017**	*0,083*	0,101	0,189	0,179
TN	* * *	* * *	* * *	**0,034**	0,159	**0,000**	**0,049**
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,991	0,211	0,569
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,386	0,632
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,789
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 1: Korrelationskoeffizienten für Homocystein

Der in der Amnionflüssigkeit am 21. Trächtigkeitstag bestimmte Parameter Homocystein zeigte Konzentrationen im Bereich um die 2 µmol/l bezogen auf die Gruppen K, FTN, F, T und N (Abb. 3). In der TN-Gruppe waren neben dem niedrigsten Mittelwert auch signifikante Unterschiede zu den Gruppen K, FN, FTN, T und N, jedoch nicht zur F-Gruppe zu finden. Den höchsten Mittelwert wies die FN-Gruppe auf, welcher sich allerdings nur von der Gruppe TN signifikant unterscheidet.

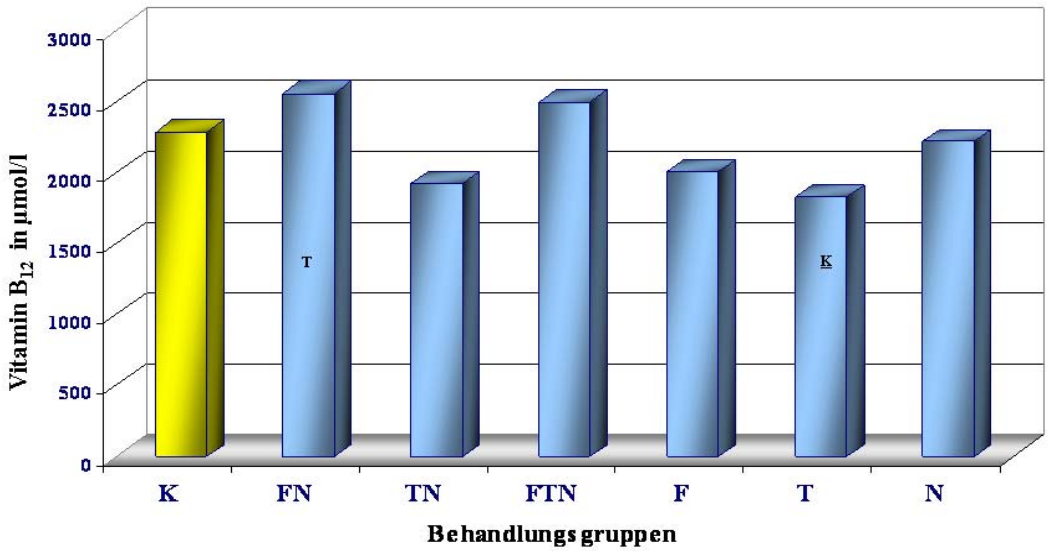

Abb. 4: Vitamin B_{12}-Konzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	Kontroll	FN	TN	FTN	F	T	N
Kontroll	* * *	0,373	*0,096*	0,544	0,167	**0,009**	0,823
FN	* * *	* * *	*0,060*	0,893	*0,092*	**0,026**	0,372
TN	* * *	* * *	* * *	0,130	0,696	0,613	0,337
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,185	*0,068*	0,503
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,296	0,480
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,167
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 2: Korrelationskoeffizienten für Vitamin B_{12}

Die Daten für das Vitamin B_{12} ergaben Konzentrationen in einem Bereich um 2000 µmol/l. Dies gilt für die Gruppen K, F und N (Abb. 4). Für die Gruppe T war ein Mittelwert von 1766,25 µmol/l zu beobachten, welcher im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erniedrigt war. Für die Gruppe TN ließ sich ebenfalls ein geringerer Mittelwert (1858,10 µmol/l) ermitteln, welcher jedoch zur Gruppe K keine signifikanten Unterschiede aufzeigte. Die Bestimmung der Vitamin B_{12}-Konzentrationen im Amnion zeigte für die Gruppen FN und FTN erhöhte Mittelwerte, wobei die Gruppe FN signifikante Unterschiede im Vergleich zur Gruppe T aufwies.

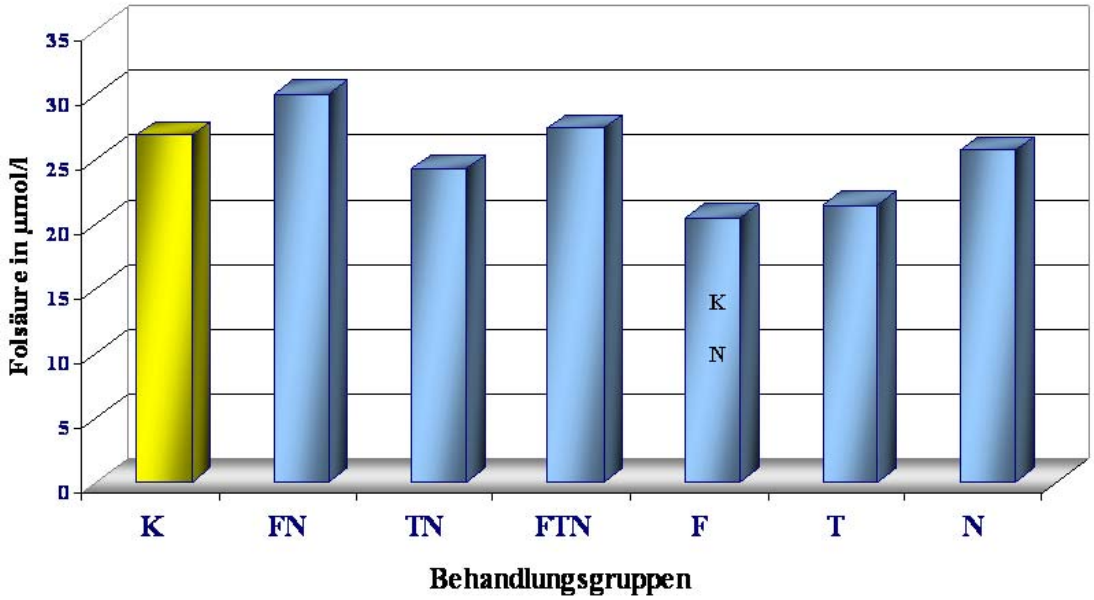

Abb. 5: Folsäurekonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,633	0,386	0,894	**0,034**	0,135	0,646
FN	* * *	* * *	0,400	0,723	0,177	0,235	0,514
TN	* * *	* * *	* * *	0,480	0,201	0,431	0,558
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,128	0,224	0,681
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,786	**0,035**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,185
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 3: Korrelationskoeffizienten für Folsäure

Die Folsäurebestimmung in der Amnionflüssigkeit erbrachte in der Kontrollgruppe, sowie in den Gruppen FN, TN, FTN und N Konzentrationen im Bereich um die 25 µmol/l (Abb. 5). Einen im Vergleich zur Kontroll-, wie auch zur N-Gruppe signifikant niedrigen Mittelwert ergab die Folsäuremessung in der F-Gruppe. Eine geringe, jedoch im Vergleich zu den anderen Gruppen nicht signifikante Erniedrigung der Folsäurekonzentration in der Amnionflüssigkeit konnte auch in der T-Gruppe beobachtet werden.

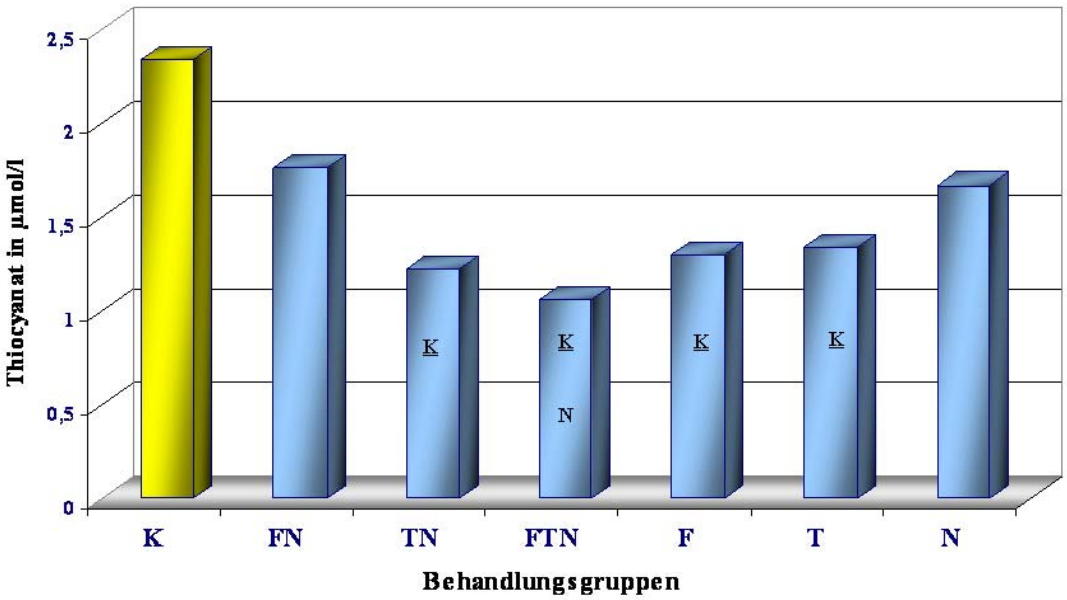

Abb. 6: Thiocyanatkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,234	**0,001**	**0,000**	**0,003**	**0,003**	*0,063*
FN	* * *	* * *	0,219	0,122	0,297	0,333	0,836
TN	* * *	* * *	* * *	0,413	0,754	0,557	0,121
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,334	0,211	**0,050**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,847	0,228
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,260
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 4: Korrelationskoeffizienten für Thiocyanat

Die in der Amnionflüssigkeit bestimmte Thiocyanatkonzentration ist in der Kontrollgruppe (K) im Gegensatz zu den anderen Behandlungsgruppen mit 2,27 µmol/l am höchsten (Abb. 6). In Bezug zur Gruppe K waren die Thiocyanatkonzentrationen der Gruppen TN, FTN, F und T signifikant erniedrigt. Zudem konnte eine signifikante Erhöhung der Thiocyanat-konzentration in Gruppe N im Vergleich zur FTN-Gruppe beobachtet werden.

4.2 Aminosäuren

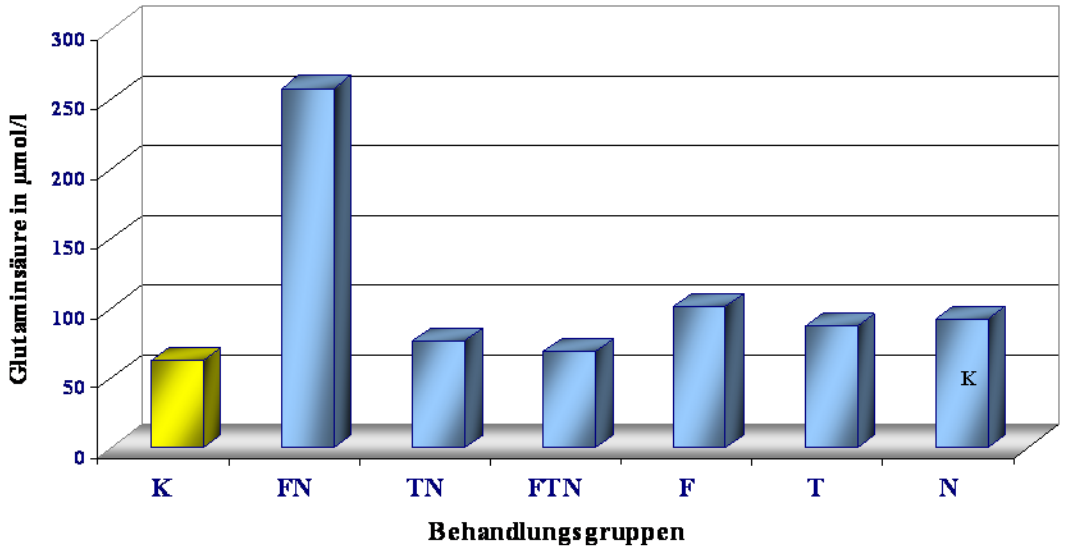

Abb. 7: Glutaminsäurekonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	*0,064*	0,279	0,610	0,258	*0,077*	**0,046**
FN	* * *	* * *	*0,082*	*0,072*	0,134	*0,098*	0,106
TN	* * *	* * *	* * *	0,598	0,472	0,489	0,335
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,348	0,233	0,150
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,681	0,786
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,770
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 5: Korrelationskoeffizienten für Glutaminsäure

Die am 21. Trächtigkeitstag in der Amnionflüssigkeit der LEW.1A Ratte bestimmte Glutaminsäurekonzentration der Kontrollgruppe war mit 60,10 µmol/l am niedrigsten, wobei ein signifikanter Konzentrationsabfall des Parameters Glutaminsäure lediglich im Vergleich mit der N-Gruppe festzustellen war. (Abb. 7). Deutlich erhöht im Vergleich zu allen anderen Gruppen zeigte sich der Mittelwert in der FN-Gruppe (249,75 µmol/l), jedoch waren keine signifikanten Unterschiede zu den anderen Gruppen nachweisbar. Im Vergleich zur Kontrollgruppe unterschied sich der Glutaminsäuremittelwert in der FN-Gruppe nicht signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0{,}064$.

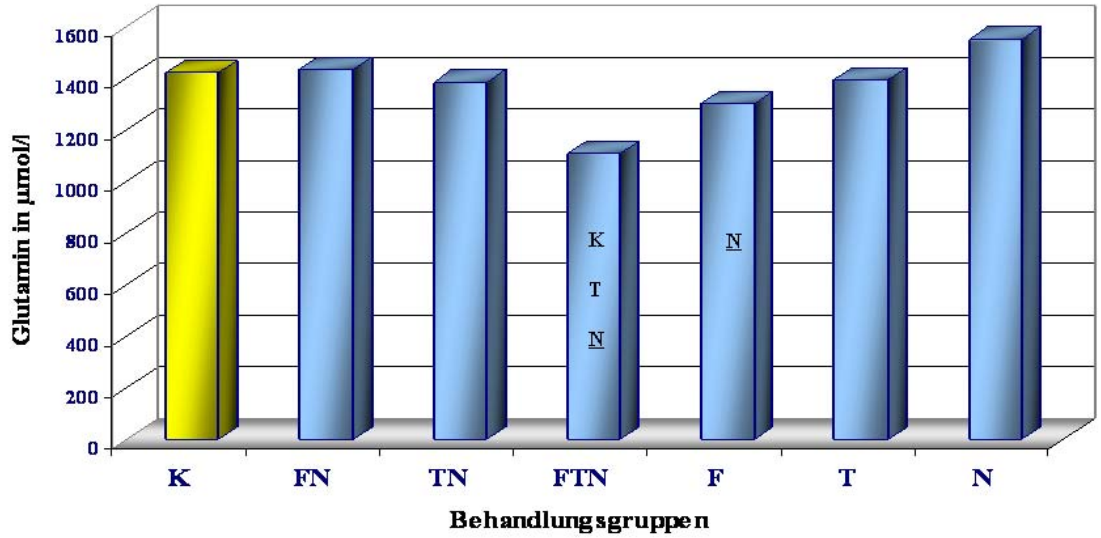

Abb. 8: Glutaminkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,950	0,774	**0,053**	0,252	0,783	0,247
FN	* * *	* * *	0,775	*0,093*	0,387	0,794	0,443
TN	* * *	* * *	* * *	0,102	0,491	0,934	0,186
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,174	**0,059**	**0,008**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,259	**0,008**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	*0,084*
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 6: Korrelationskoeffizienten für Glutamin

In der Amnionflüssigkeit wurden Glutaminkonzentrationen in einem Bereich um 1400 µmol/l ermittelt. Dies gilt für die Gruppen K, FN, TN, T und N (Abb.8). Der niedrigste Glutaminmittelwert in der FTN-Gruppe (1074,38 µmol/l) zeigte signifkante Unterschiede zu den Gruppen T, N und K. Im Vergleich zur N-Gruppe stellte sich zudem die gemessene Glutamin-konzentration der Folsäuregruppe als signifikant erniedrigt dar.

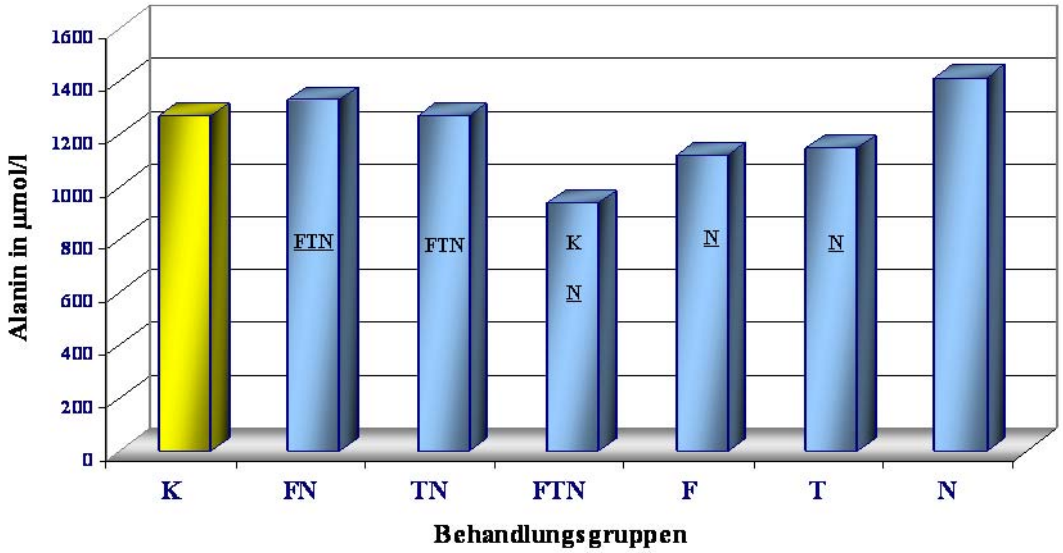

Abb. 9: Alaninkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,644	0,995	**0,028**	0,189	0,279	0,176
FN	* * *	* * *	0,666	**0,013**	*0,083*	0,124	0,443
TN	* * *	* * *	* * *	**0,034**	0,222	0,315	0,216
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,144	*0,089*	**0,002**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,705	**0,001**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,001**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 7: Korrelationskoeffizienten für Alanin

Die Konzentrationen der Aminosäure Alanin stellten sich in den Gruppen K, FN, TN und N in einem Bereich um die 1200 µmol/l dar (Abb. 9). Die niedrigste Alaninkonzentration aller Behandlungsgruppen wurde mit 907,00 µmol/l für die FTN-Gruppe ermittelt, welche wie auch die nachgewiesenen Alaninkonzentrationen der Gruppen F und T signifikant erniedrigt im Vergleich zur Natulan®-Gruppe waren. Im Vergleich zur FTN-Gruppe waren die Konzentrationen der Gruppen K, FN und TN signifikant erhöht.

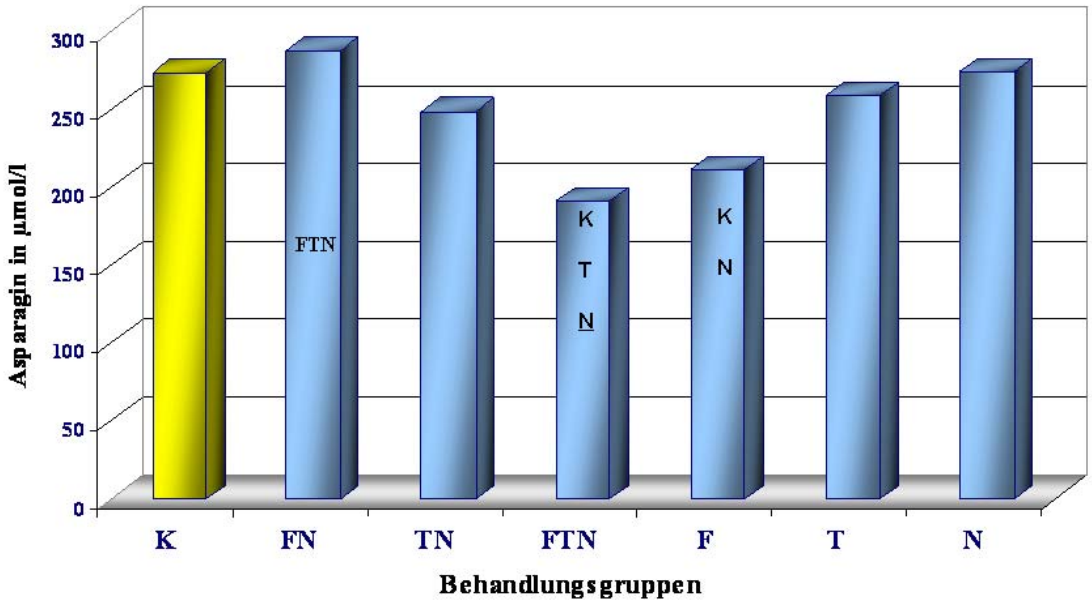

Abb. 10: Asparaginkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,733	0,415	**0,022**	**0,057**	0,532	0,974
FN	* * *	* * *	0,368	**0,045**	*0,095*	0,456	0,742
TN	* * *	* * *	* * *	0,106	0,260	0,712	0,374
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,569	**0,037**	**0,017**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,100	**0,044**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,470
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten für Asparagin

Bei der Aminosäure Asparagin (Abb. 10) fanden sich in der Amnionflüssigkeit Konzentrationen in einem Bereich um die 260 µmol/l. Dies gilt sowohl für die Gruppen K, FN, TN, T und N. Vermutlich durch die Streuung der Werte bedingt, zeigten die beiden Gruppen mit den niedrigsten Mittelwerten (Gruppen FTN und F) zwar signifikante Unterschiede zu den Gruppen K und N, jedoch nicht zu den Gruppen FN und TN. Außerdem erwiesen sich die Konzentrationen der Gruppe FTN im Vergleich zur Gruppe FN als signifikant erniedrigt, gleiches gilt auch für den Vergleich mit der Gruppe T.

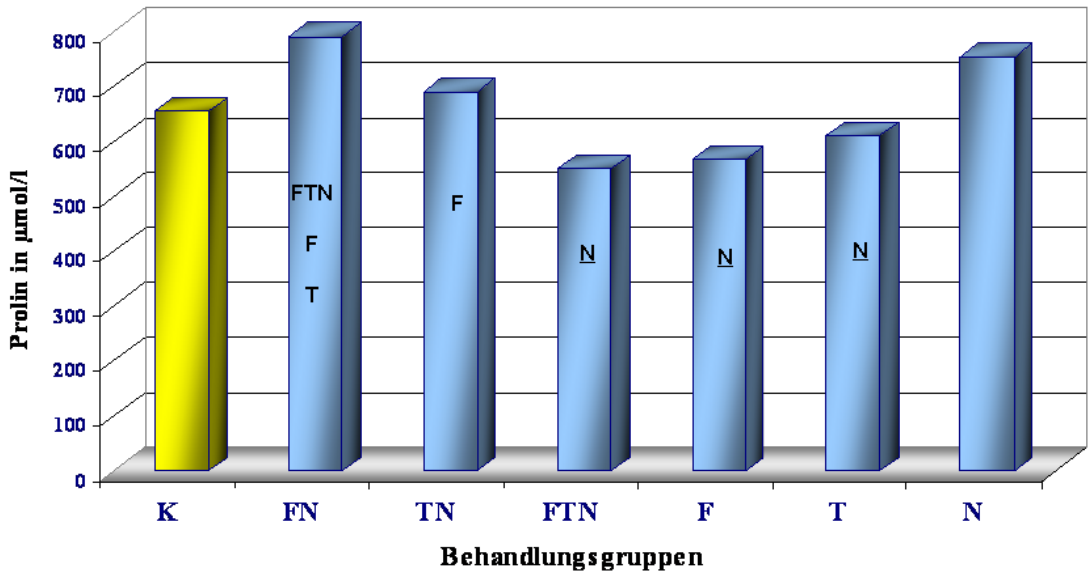

Abb. 11: Prolinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,148	0,602	0,141	*0,089*	0,410	0,122
FN	* * *	* * *	0,302	**0,023**	**0,023**	**0,056**	0,683
TN	* * *	* * *	* * *	*0,077*	**0,053**	0,206	0,373
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,772	0,297	**0,009**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,168	**0,002**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,013**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 9: Korrelationskoeffizienten für Prolin

Für die Aminosäure Prolin ergaben sich im Vergleich zur Gruppe N signifikant erniedrigte Konzentrationen in den Behandlungsgruppen FTN, F und T (Abb. 11). Die Konzentrationen der Gruppen FN und TN zeigten signifikante Erhöhungen im Vergleich mit der F-Gruppe, wobei der Mittelwert in der FN-Gruppe zusätzlich im Vergleich mit den Gruppen FTN und T signifikant erhöht war.

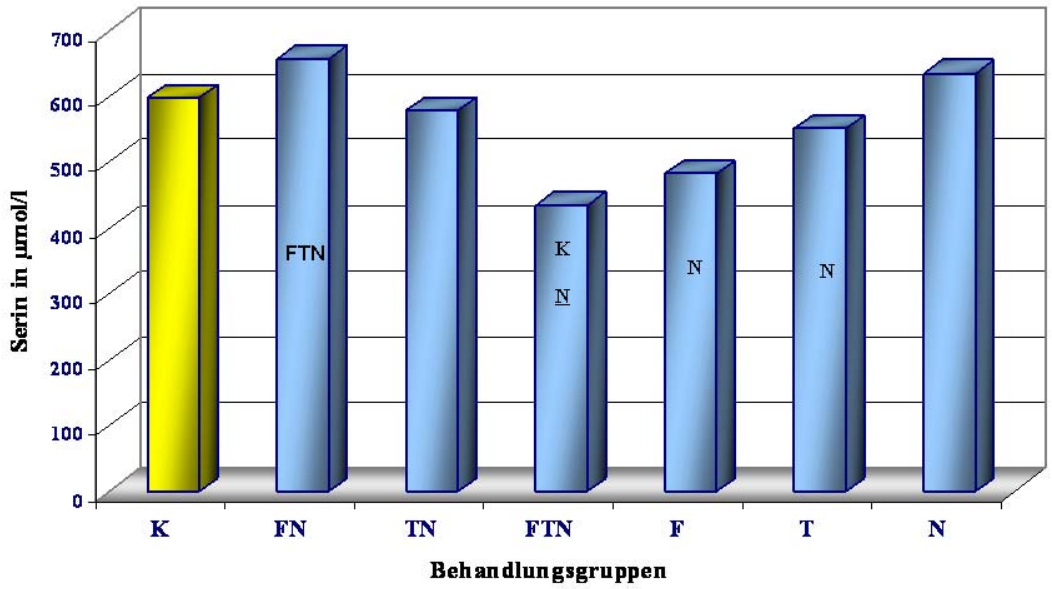

Abb. 12: Serinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,525	0,796	**0,053**	0,122	0,408	0,501
FN	* * *	* * *	0,416	**0,041**	*0,084*	0,227	0,790
TN	* * *	* * *	* * *	*0,089*	0,201	0,630	0,344
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,571	0,111	**0,013**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,263	**0,020**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,030**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 10: Korrelationskoeffizienten für Serin

Die nachgewiesenen Konzentrationen der Aminosäure Serin (Abb. 12) zeigten in den Gruppen K, FN, TN, T und N Mittelwerte in einem Bereich um die 600 µmol/l. Die geringste Serinkonzentration war in der FTN-Gruppe (421,75 µmol/l) zu finden, welche sich wie auch die Konzentrationen der Gruppen F und T im Vergleich zur N-Gruppe als signifikant erniedrigt darstellten. Im Vergleich zur FTN-Gruppe waren signifikant erhöhte Konzentrationen lediglich in den Gruppen K und FN feststellbar.

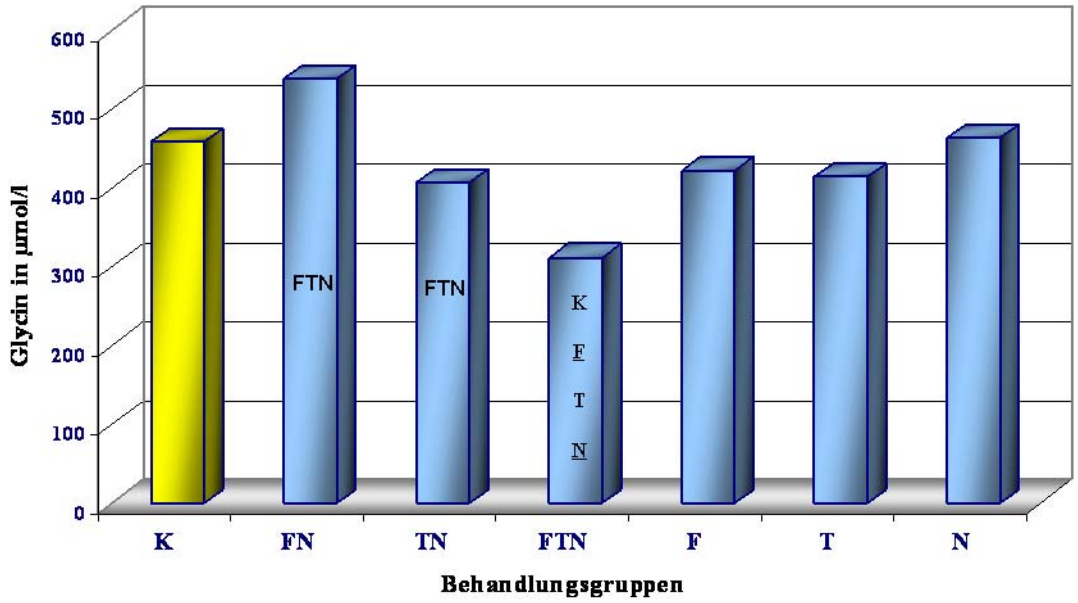

Abb. 13: Glycinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,385	0,399	**0,026**	0,522	0,432	0,924
FN	* * *	* * *	0,139	**0,021**	0,175	0,150	0,361
TN	* * *	* * *	* * *	**0,057**	0,696	0,833	0,166
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,015**	**0,020**	**0,002**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,802	0,199
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,108
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 11: Korrelationskoeffizienten für Glycin

Bei der Aminosäure Glycin fanden sich in der Amnionflüssigkeit der Gruppen K, TN, F, T und N Konzentrationen in einem Bereich um die 400 µmol/l (Abb. 13). Abweichend zeigte sich die ermittelte Glycinkonzentration in der FN-Gruppe mit einem Wert von 522,75 µmol/l, jedoch im Vergleich zu den anderen Gruppen, vermutlich durch die Streuung der Werte bedingt, als nicht signifikant erhöht. Die FTN-Gruppe erwies sich mit einer Glycinkonzentration von 301,88 µmol/l als signifikant erniedrigt im Vergleich zu allen Behandlungsgruppen, sowie der unbehandelten Kontrollgruppe K.

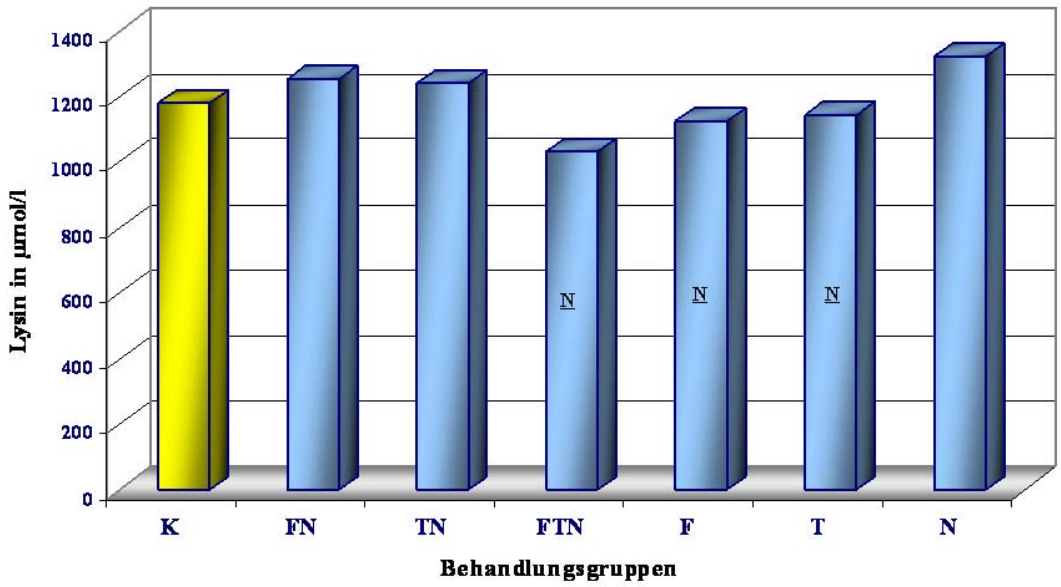

Abb. 14: Lysinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,446	0,538	0,189	0,502	0,650	*0,074*
FN	* * *	* * *	0,911	*0,064*	0,144	0,193	0,408
TN	* * *	* * *	* * *	*0,085*	0,204	0,269	0,364
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,340	0,246	**0,011**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,732	**0,002**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,002**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 12: Korrelationskoeffizienten für Lysin

Nach der Bestimmung des Lysins in der Amnionflüssigkeit (Abb. 14) wiesen die Gruppen K, FN und TN Konzentrationen in einem Bereich um die 1186,62 µmol/l auf. Im Vergleich zu allen Untersuchungsgruppen erniedrigte Lysinkonzentrationen waren für die Gruppen FTN, F und T feststellbar, für welche signifikant geringere Konzentrationen im Vergleich zur Natulan®-Gruppe (1281,50 µmol/l) nachweisbar waren.

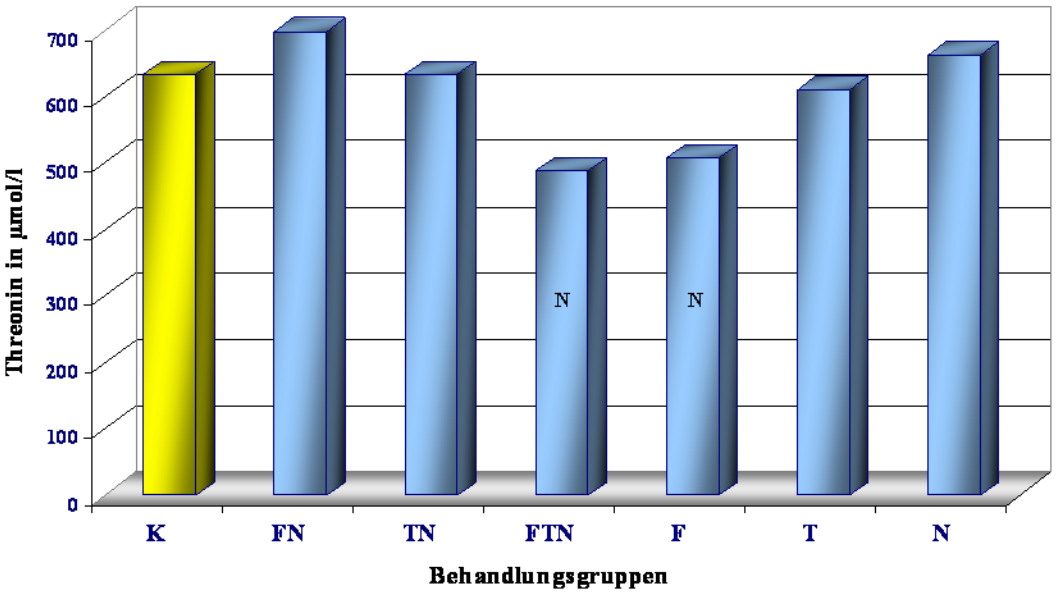

Abb. 15: Threoninkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,538	0,997	*0,081*	0,122	0,704	0,656
FN	* * *	* * *	0,545	*0,066*	*0,091*	0,367	0,715
TN	* * *	* * *	* * *	*0,093*	0,138	0,725	0,672
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,806	*0,096*	**0,025**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,149	**0,037**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,299
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 13: Korrelationskoeffizienten für Threonin

Die in der Amnionflüssigkeit bestimmten Threoninkonzentrationen der Gruppen K, TN und T lagen in einem Bereich um die 600 µmol/l (Abb. 15). Im Vergleich dazu waren in den Gruppen FN und N erhöhte Threoninkonzentrationen messbar, welche sich jedoch nicht signifkant unterschieden. Die niedrigsten Threoninkonzentrationen aller Untersuchungsgruppen wurden in den Gruppen FTN und F ermittelt und wiesen signifikante Unterschiede im Vergleich mit der Natulan®-Gruppe auf.

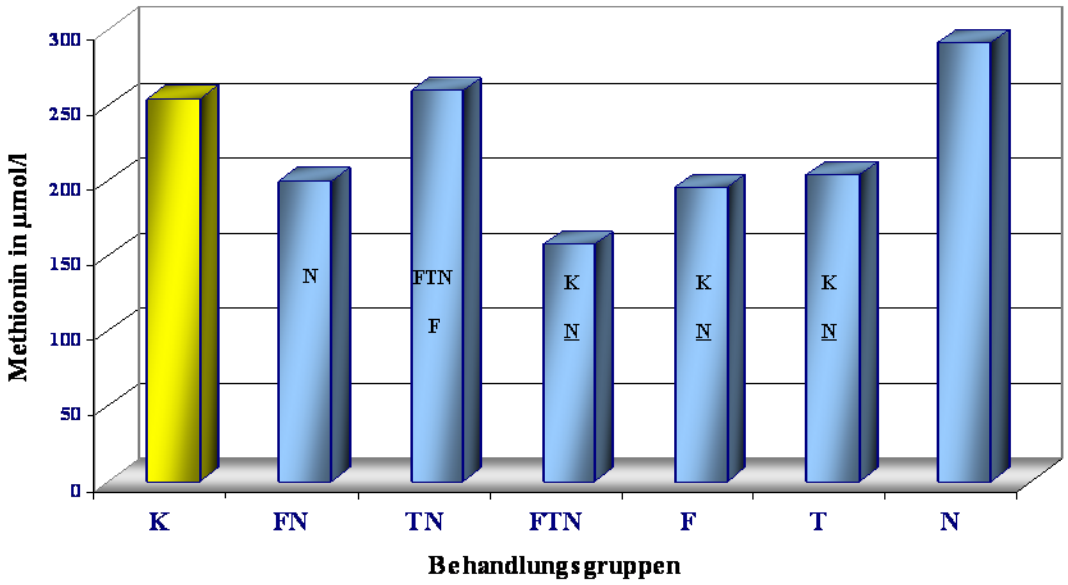

Abb. 16: Methioninkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,149	0,875	**0,026**	**0,022**	**0,040**	0,188
FN	* * *	* * *	0,153	0,349	0,898	0,900	**0,021**
TN	* * *	* * *	* * *	**0,029**	**0,048**	*0,077*	0,341
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,296	0,208	**0,004**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,606	**0,000**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,001**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 14: Korrelationskoeffizienten für Methionin

Bei der Aminosäure Methionin fanden sich in der Amnionflüssigkeit am 21. Tag post conceptionem in der Kontroll- und der TN-Gruppe Konzentrationen in einem Bereich um die 250 µmol/l (Abb. 16). Im Vergleich zur Kontrollgruppe K erwiesen sich die Konzentrationen der Gruppen FN, FTN, F und T als erniedrigt, wobei die Gruppen FTN, F und T eine signifikante Erniedrigung aufzeigten. Eine erhöhte Methioninkonzentration ergab sich im Vergleich zu allen Untersuchungsgruppen in der Natulan®-Gruppe (283 µmol/l), wobei eine signifikante Erhöhung im Vergleich zu den Gruppen FN, FTN, F und T feststellbar war. Zudem zeigten die Gruppen FTN und F im Vergleich zur TN-Gruppe eine signifikante Erniedrigung der Methioninkonzentration.

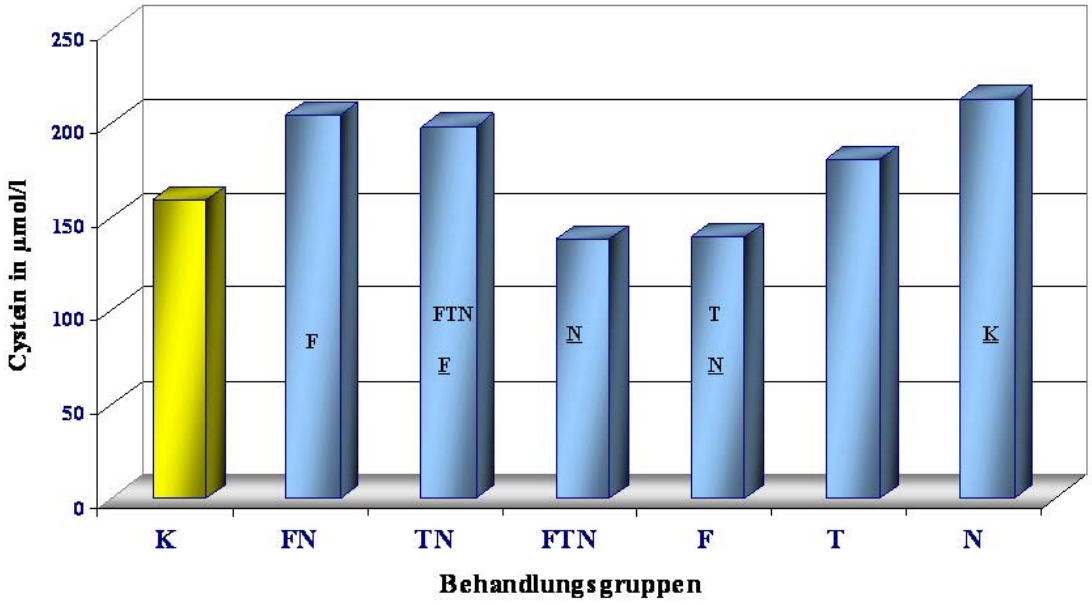

Abb. 17: Cysteinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,127	*0,069*	0,440	0,324	0,183	**0,006**
FN	* * *	* * *	0,823	*0,070*	**0,045**	0,393	0,782
TN	* * *	* * *	* * *	**0,053**	**0,018**	0,384	0,490
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,982	0,123	**0,016**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,042**	**0,002**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	*0,069*
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 15: Korrelationskoeffizienten für Cystein

Die Cysteinbestimmung in der Amnionflüssigkeit (Abb. 17) ergab im Vergleich zur Kontrollgruppe K erhöhte Cysteinkonzentrationen in den Behandlungsgruppen FN, TN, T und N, wobei eine signifikante Erhöhung nur für die Natulan®-Gruppe (Gruppe N) erreicht wurde. Im Vergleich zwischen allen Untersuchungsgruppen war in den Gruppen FTN und F ein Abfall der Cysteinkonzentration feststellbar, welcher sich im Vergleich zur N-Gruppe als signifikant erniedrigt zeigte. Zudem wurde für die Behandlungsgruppe F eine signifikante Erniedrigung der Cysteinkonzentration im Vergleich mit der Thiocyanatgruppe (T) nachgewiesen. Als signifikant im Vergleich mit der F-Gruppe erhöht, stellten sich die ermittelten Cysteinkonzentrationen der Gruppen FN und TN dar, wobei TN zusätzlich eine signifikante Erhöhung im Vergleich mit der FTN-Gruppe aufzeigte.

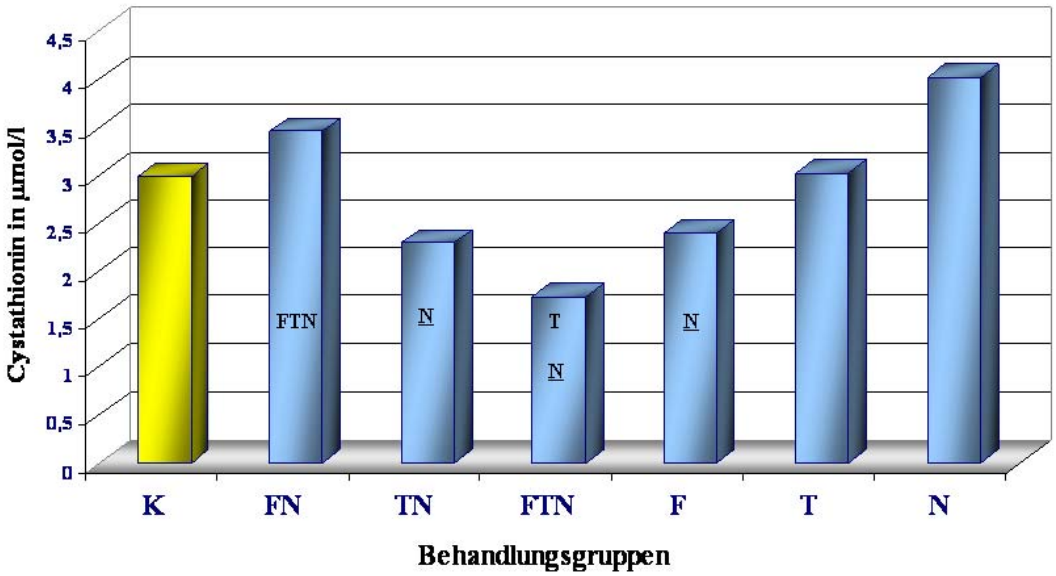

Abb. 18: Cystathioninkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,542	0,351	*0,087*	0,396	0,950	0,182
FN	* * *	* * *	0,113	**0,022**	0,122	0,495	0,447
TN	* * *	* * *	* * *	0,376	0,863	0,214	**0,019**
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,248	**0,026**	**0,002**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,228	**0,017**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,113
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 16: Korrelationskoeffizienten für Cystathionin

Im Vergleich zur Kontrollgruppe K ergab die Bestimmung der Aminosäure Cystathionin Konzentrationserhöhungen in den Behandlungsgruppen FN, T und N, jedoch waren die Unterschiede nicht signifikant (Abb. 18). Konzentrationserniedrigungen im Vergleich zwischen allen Untersuchungsgruppen zeigten sich in den Gruppen TN, FTN und F, für welche im Vergleich mit der Natulan®-Gruppe (Gruppe N) signifikante Unterschiede feststellbar waren. Für die Kombination von Folsäure, Thiocyanat und Folsäure (Gruppe FTN) wurden signifikante Verringerungen der Cystathioninkonzentration im Vergleich zu den Gruppen FN und T ermittelt.

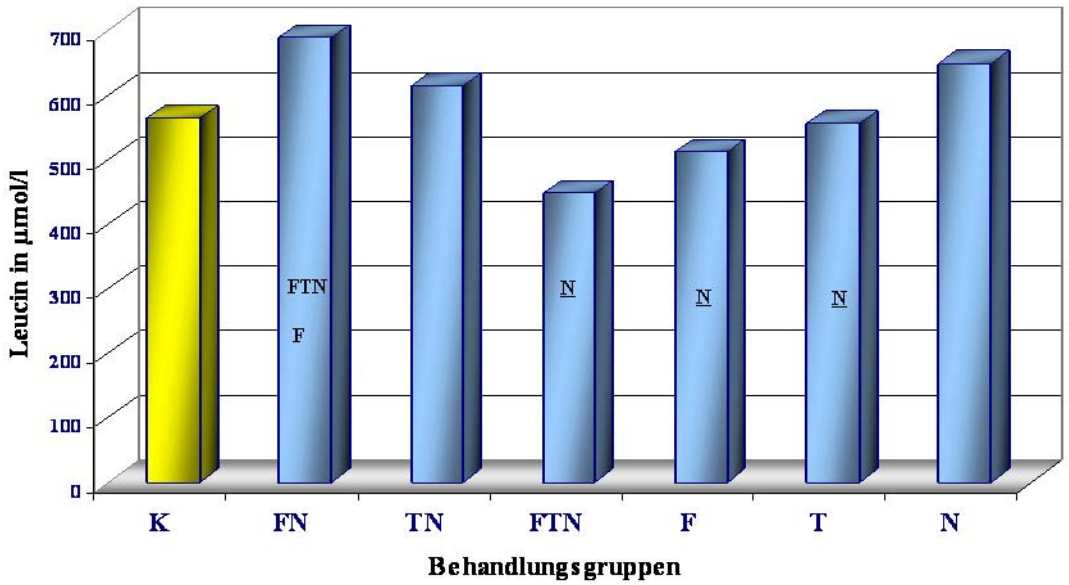

Abb. 19: Leucinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,193	0,512	0,161	0,385	0,891	0,163
FN	* * *	* * *	0,432	**0,028**	**0,058**	0,138	0,637
TN	* * *	* * *	* * *	*0,062*	0,128	0,375	0,576
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,371	0,143	**0,014**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,322	**0,005**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,043**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 17: Korrelationskoeffizienten für Leucin

Die Bestimmung der Aminosäure Leucin in der Amnionflüssigkeit (Abb. 19) ergab in der Kontrollgruppe einen Wert von 547,27 µmol/l. Im Vergleich dazu waren erniedrigte, jedoch zur Kontrollgruppe nicht signifikante Leucinkonzentrationen in den Gruppen FTN, F und T zu finden. Letztere zeigten im Vergleich zur N-Gruppe signifikante Konzentrations-erniedrigungen. In den Untersuchungsgruppen FN, TN und N waren im Vergleich zu den anderen Gruppen erhöhte Leucinkonzentrationen feststellbar, wobei signifikante Unterschiede lediglich in der Gruppe FN im Vergleich zur FTN- und F-Gruppe ersichtlich waren.

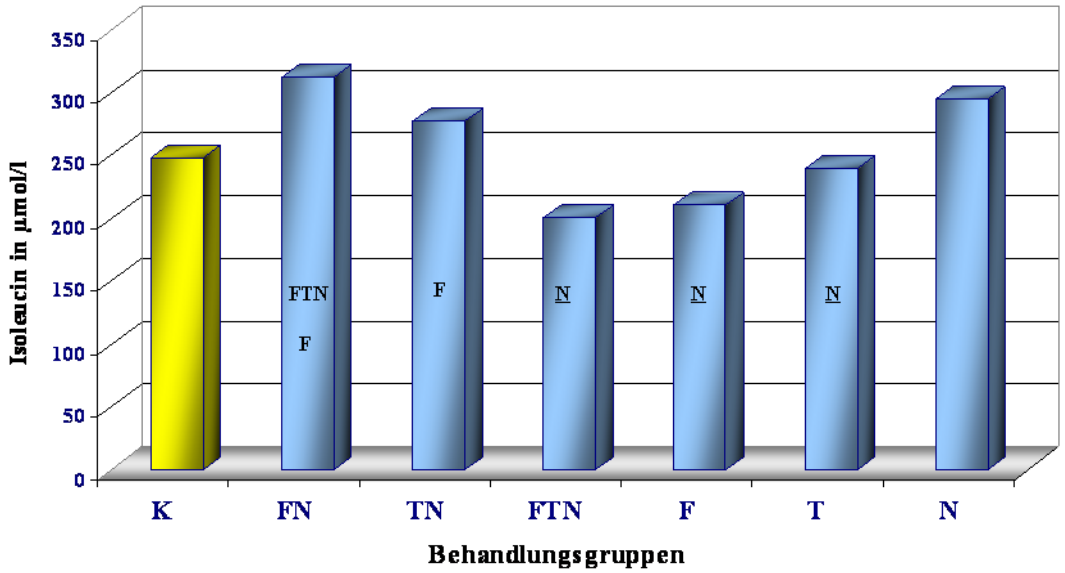

Abb. 20: : Isoleucinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,183	0,412	0,212	0,181	0,772	*0,095*
FN	* * *	* * *	0,487	**0,040**	**0,040**	0,120	0,694
TN	* * *	* * *	* * *	*0,070*	**0,050**	0,244	0,587
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,748	0,238	**0,013**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,153	**0,000**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,012**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 18: Korrelationskoeffizienten für Isoleucin

Die Bestimmung der Aminosäure Isoleucin in der Amnionflüssigkeit zeigte in den Untersuchungsgruppen FTN, F und T im Vergleich zu den anderen Gruppen erniedrigte Konzentrationen, wobei diese sich im Vergleich zur Natulan®-Gruppe signifikant unterschieden (Abb. 20). Die Isoleucin-konzentrationen der Gruppen FN, FTN und N waren gegenüber dem Kontrollgruppenwert erhöht, wenn auch nicht signifikant.
Im Vergleich zur Folsäuregruppe (F) zeigten die Behandlungsgruppen FN und TN signifikante Konzentrationserhöhungen, wobei die Isoleucin-konzentration in der Gruppe FN zusätzlich im Vergleich zur FTN-Gruppe signifikant erhöht war.

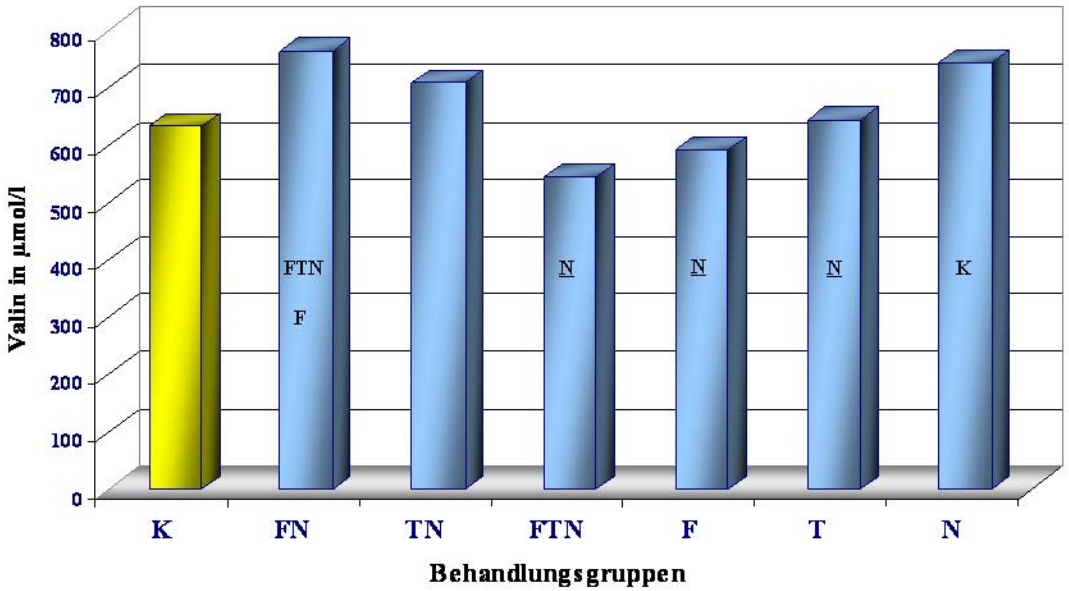

Abb. 21: Valinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,122	0,313	0,259	0,474	0,838	**0,051**
FN	* * *	* * *	0,532	**0,025**	**0,037**	0,124	0,780
TN	* * *	* * *	* * *	*0,062*	*0,092*	0,331	0,581
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,495	0,158	**0,011**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,237	**0,001**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,017**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 19: Korrelationskoeffizienten für Valin

Die Bestimmung der Aminosäure Valin ergab im Vergleich zur Kontrollgruppe K erniedrigte Konzentrationen in den Gruppen FTN und F, sowie erhöhte Valinkonzentrationen in den Behandlungsgruppen FN, TN, T und N, wobei lediglich die Natulan®-Gruppe (N) einen signifikanten Unterschied zur Gruppe K aufzeigte (Abb. 21). Im Vergleich zur N-Gruppe waren für die Gruppen FTN, F und T signifikante Erniedrigungen der Valinkonzentration feststellbar. Die Behandlungsgruppe FN zeigte eine signifikante Erhöhung im Vergleich zu den Gruppen FTN und F.

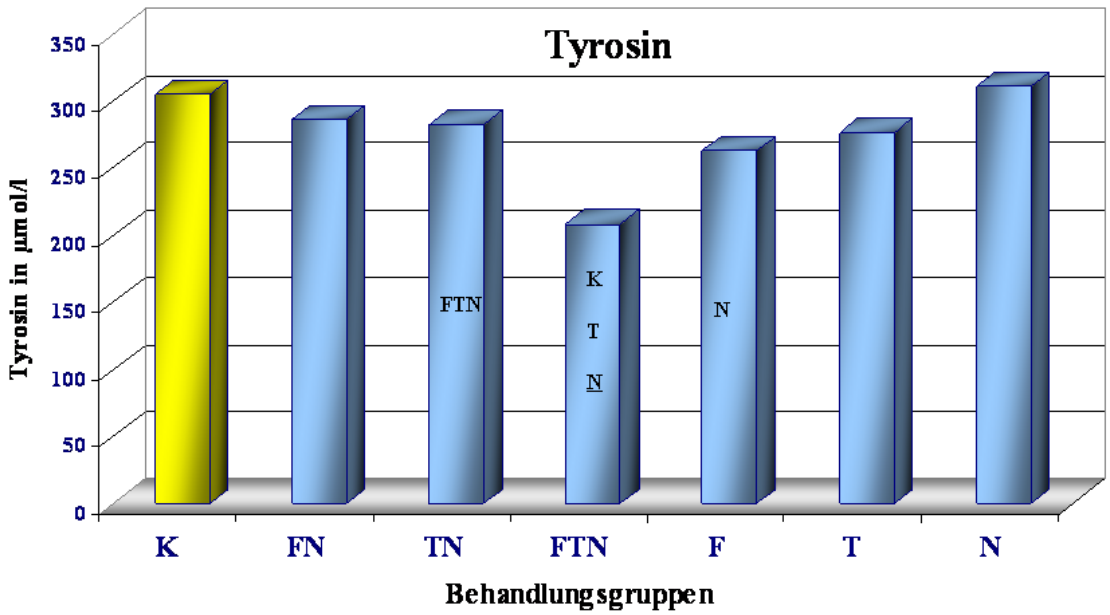

Abb. 22: Tyrosinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,657	0,549	**0,021**	0,210	0,385	0,868
FN	* * *	* * *	0,927	*0,068*	0,503	0,780	0,488
TN	* * *	* * *	* * *	**0,044**	0,474	0,824	0,325
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	*0,082*	**0,034**	**0,004**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,482	**0,033**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,108
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 20: Korrelationskoeffizienten für Tyrosin

Bei der Aminosäure Tyrosin (Abb. 22) fanden sich in der Amnionflüssigkeit Konzentrationen in einem Bereich um die 280 µmol/l. Dies gilt sowohl für die Gruppen K, FN, TN, T und N. Die beiden Behandlungsgruppen mit den niedrigsten Tyrosinkonzentrationen (Gruppen FTN und F) zeigten signifikante Unterschiede zur Natulan®-Gruppe (N). Außerdem erwiesen sich die Konzentrationen der Gruppe FTN im Vergleich zur Gruppe TN als signifikant erniedrigt, gleiches gilt auch für den Vergleich mit den Gruppen K und T.

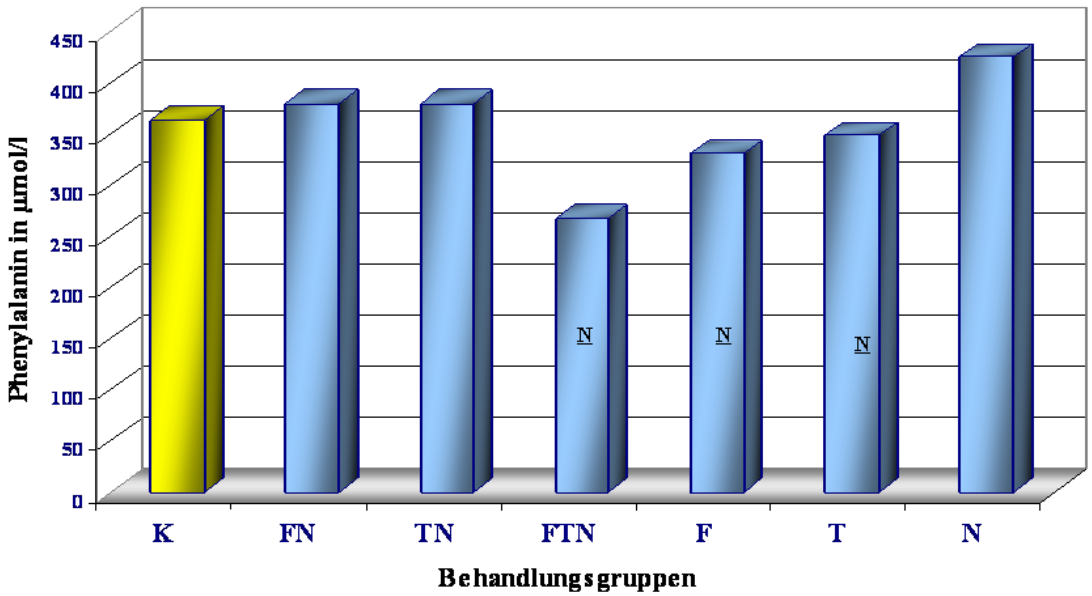

Abb. 23: Phenylalaninkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,792	0,752	0,112	0,381	0,682	0,113
FN	* * *	* * *	1,000	0,126	0,387	0,576	0,423
TN	* * *	* * *	* * *	*0,086*	0,279	0,482	0,315
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,245	0,142	**0,012**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,511	**0,003**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,009**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 21: Korrelationskoeffizienten für Phenylanlanin

Die Bestimmung der Aminosäure Phenylalanin in der Amnionflüssigkeit ergab Konzentrationen im Bereich um die 360 µmol/l. Dies gilt für die Untersuchungsgruppen K, FN und TN (Abb. 23). Für die Behandlungsgruppen mit den minimalsten Konzentrationen (Gruppen FTN, F und T) waren signifikante Unterschiede zur Natulan®-Gruppe (N) feststellbar, welche zudem die höchste Phenylalaninkonzentration aller Untersuchungsgruppen aufwies.

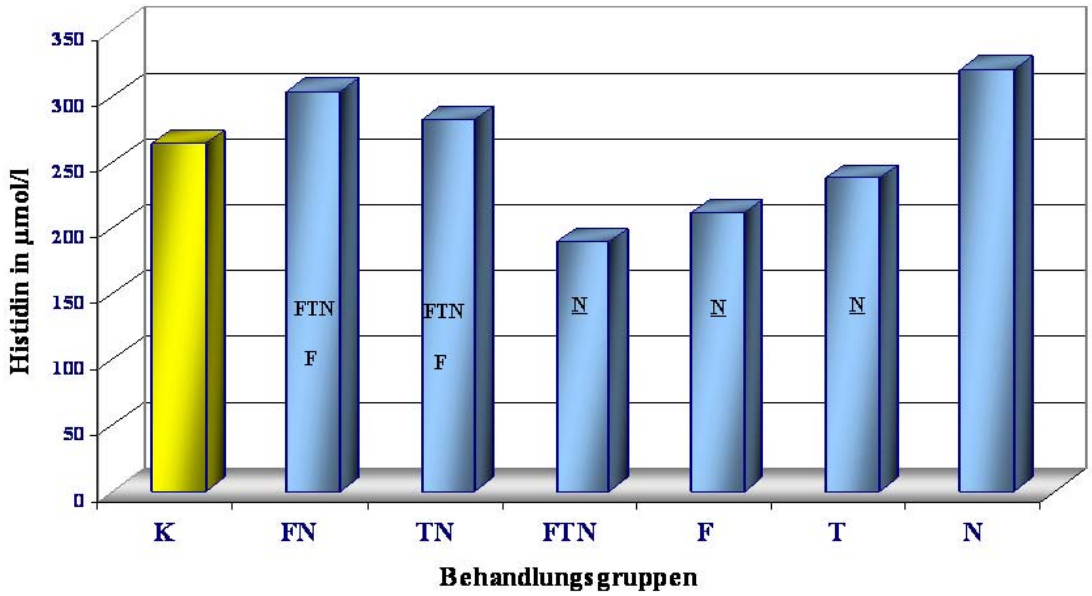

Abb. 24: Histidinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,410	0,629	0,114	*0,097*	0,414	*0,080*
FN	* * *	* * *	0,656	**0,048**	**0,052**	0,151	0,695
TN	* * *	* * *	* * *	**0,056**	**0,034**	0,180	0,233
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,575	0,248	**0,007**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,245	**0,000**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,002**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 22: Korrelationskoeffizienten für Histidin

Die Bestimmung der Histidinkonzentrationen in der Amnionflüssigkeit der LEW.1A Ratte ergab im Vergleich zur Kontrollgruppe K erhöhte Werte in den Gruppen FN, TN und N, jedoch ohne signifikante Unterscheidung (Abb. 24). Die Untersuchungsgruppen mit den niedrigsten Konzentrationen (Gruppen FTN, F und T) zeigten signifikante Unterschiede zur Natulan®-Gruppe (N), welche zudem die höchste Histidinkonzentration aller Untersuchungsgruppen aufwies. Die Histidinkonzentrationen der Gruppen FN und TN wiesen signifikante Unterschiede zu den Behandlungsgruppen FTN und F auf.

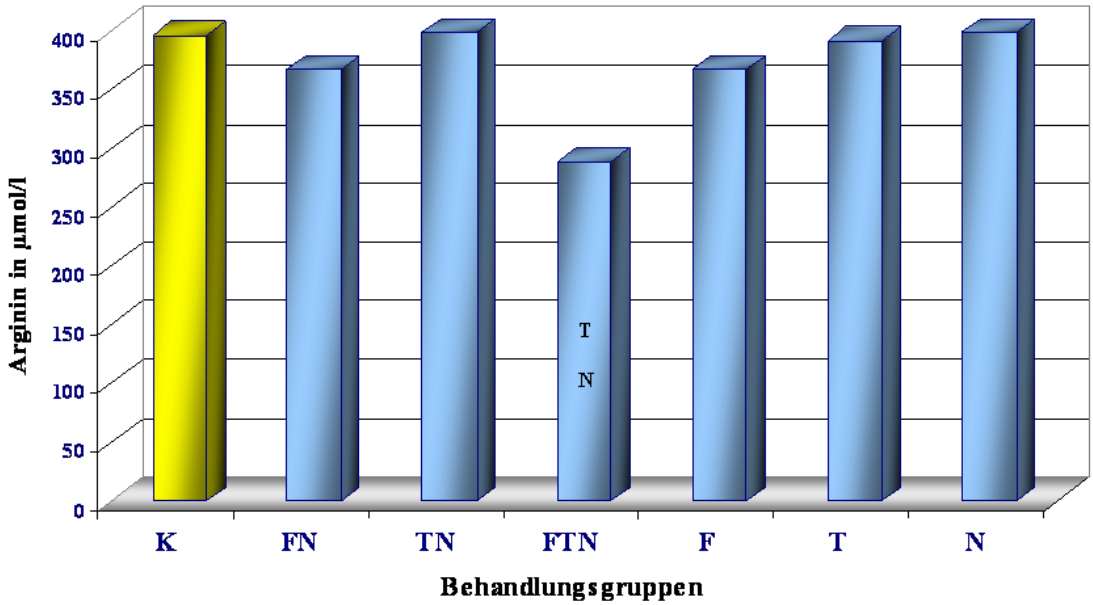

Abb. 25: Argininkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,552	0,957	*0,061*	0,379	0,889	0,949
FN	* * *	* * *	0,558	0,206	0,992	0,585	0,480
TN	* * *	* * *	* * *	*0,072*	0,438	0,861	0,992
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,129	**0,059**	**0,045**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,345	0,198
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,790
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 23: Korrelationskoeffizienten für Arginin

Bei der Aminosäure Arginin (Abb. 25) fanden sich in der Amnionflüssigkeit Konzentrationen im Bereich um die 375 µmol/l. Dies gilt für die Untersuchungsgruppen K, FN, TN, F, T und N. Für die Behandlungsgruppe FTN mit der niedrigsten Argininkonzentration waren signifikante Unterschiede im Vergleich mit den Gruppen T und N feststellbar.

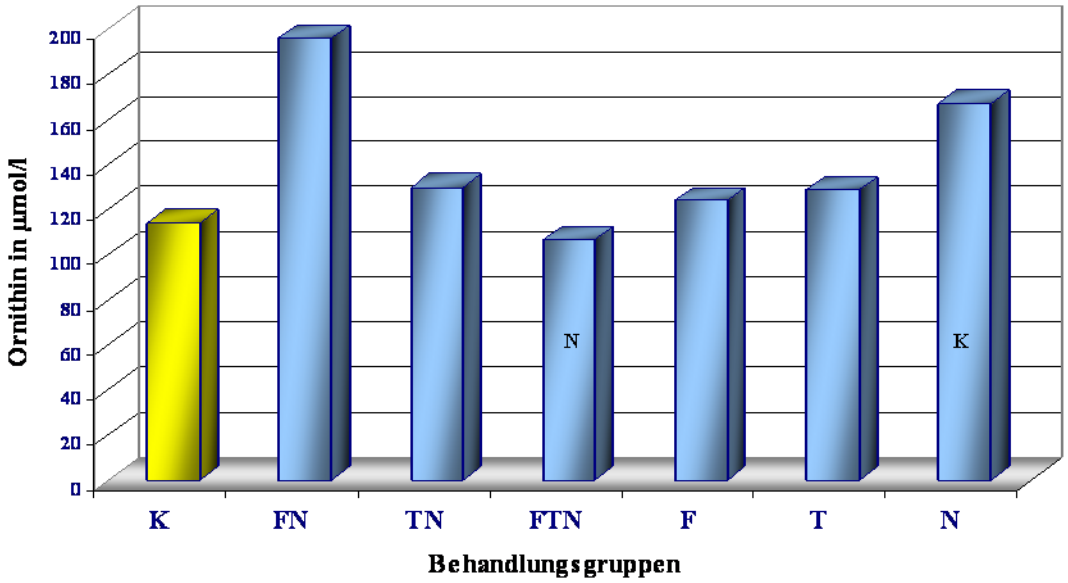

Abb. 26: Ornithinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,128	0,159	0,644	0,460	0,268	**0,024**
FN	* * *	* * *	0,206	0,106	0,177	0,201	0,586
TN	* * *	* * *	* * *	0,164	0,673	0,921	*0,098*
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,333	0,217	**0,021**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,769	*0,072*
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,100
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 24: Korrelationskoeffizienten für Ornithin

Die Bestimmung der Konzentrationen der Aminosäure Ornithin in der Amnionflüssigkeit (Abb. 26.) ergab für die Untersuchungsgruppen K, TN, FTN, F und T Werte im Bereich um die 120 µmol/l. Demgegenüber erhöhte Ornithinkonzentrationen waren für die Gruppen FN und N feststellbar, wobei für die Natulan®-Gruppe (N) signifikante Unterschiede im Vergleich mit den Gruppen K und FTN ersichtlich waren.

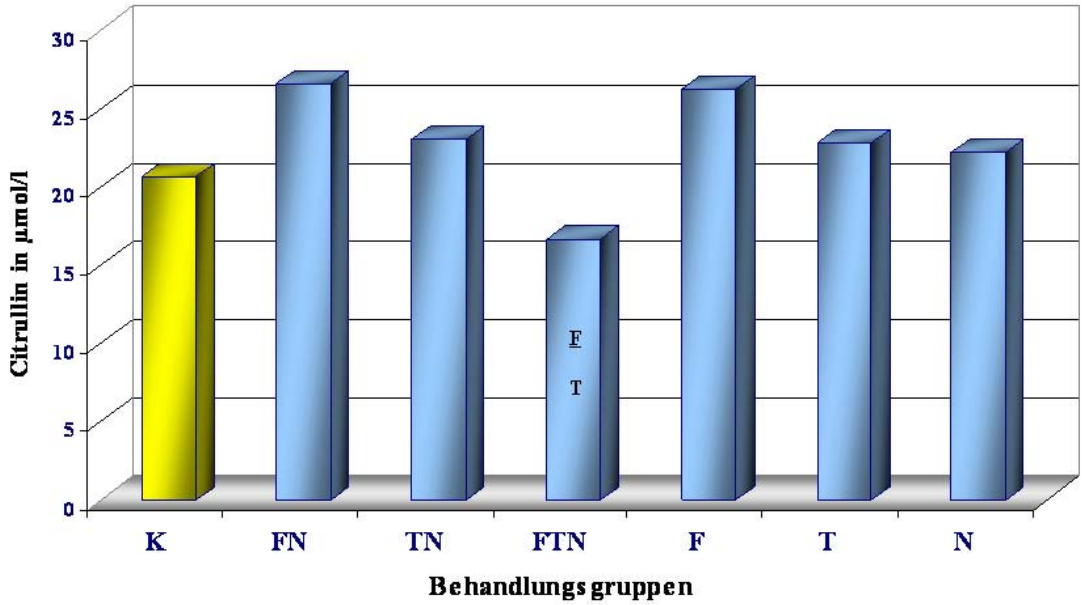

Abb. 27: Citrullinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,394	0,558	0,334	0,165	0,558	0,681
FN	* * *	* * *	0,583	0,148	0,950	0,547	0,491
TN	* * *	* * *	* * *	*0,067*	0,302	0,934	0,773
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,007**	**0,045**	*0,076*
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,180	0,139
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,790
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 25: Korrelationskoeffizienten für Citrullin

Die Bestimmung der Aminosäure Citrullin ergab für die Untersuchungsgruppen K, TN, T und N Konzentrationen im Bereich um die 120 µmol/l (Abb. 27). Demgegenüber erhöhte Citrullinkonzentrationen zeigten die Gruppen FN und F, jedoch sich nicht signifikant unterscheidend. Die geringste Citrullinkonzentration verzeichnete die Gruppe FTN, welche signifikante Unterschiede zu den Behandlungsgruppen F und T zeigte.

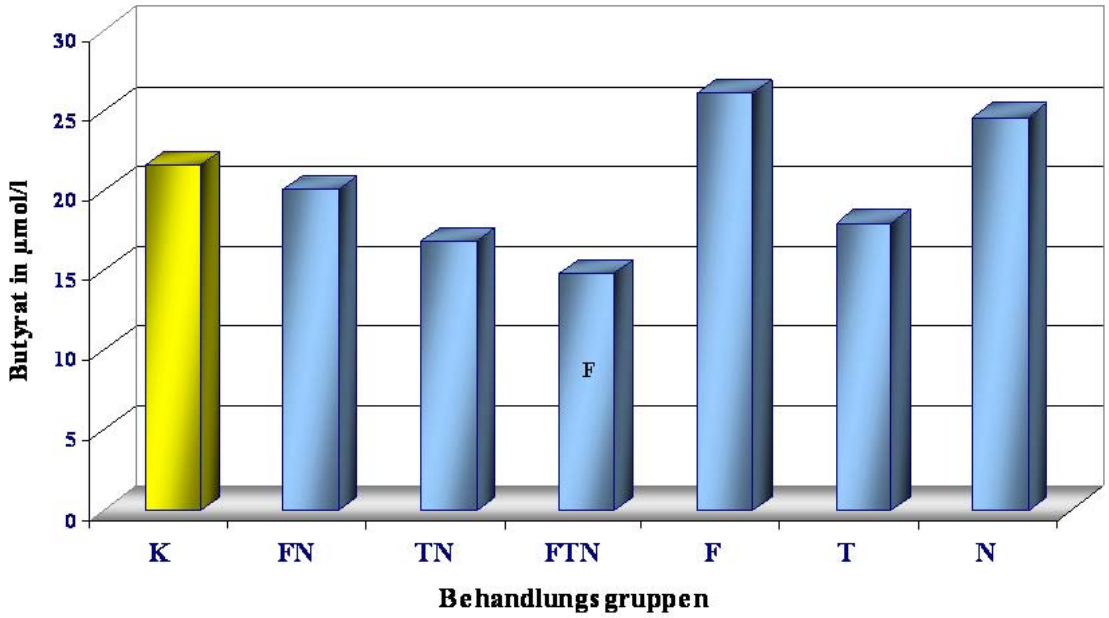

Abb. 28: Butyratkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,752	0,231	0,131	0,411	0,373	0,724
FN	* * *	* * *	0,474	0,288	0,299	0,653	0,600
TN	* * *	* * *	* * *	0,577	*0,072*	0,715	0,350
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,042**	0,398	0,255
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,115	0,869
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,427
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 26: Korrelationskoeffizienten für Butyrat

Die Konzentrationsbestimmung für Butyrat (Abb. 28) ergab im Vergleich zur Kontrollgruppe K erhöhte Werte in den Gruppen F und N, jedoch nicht signifikant. Erniedrigte Butyratkonzentrationen zeigten sich im Vergleich zur Kontrollgruppe in den Gruppen FN, TN, FTN und T, wobei für die FTN-Gruppe eine signifikante Erniedrigung im Vergleich zur F-Gruppe ersichtlich wurde.

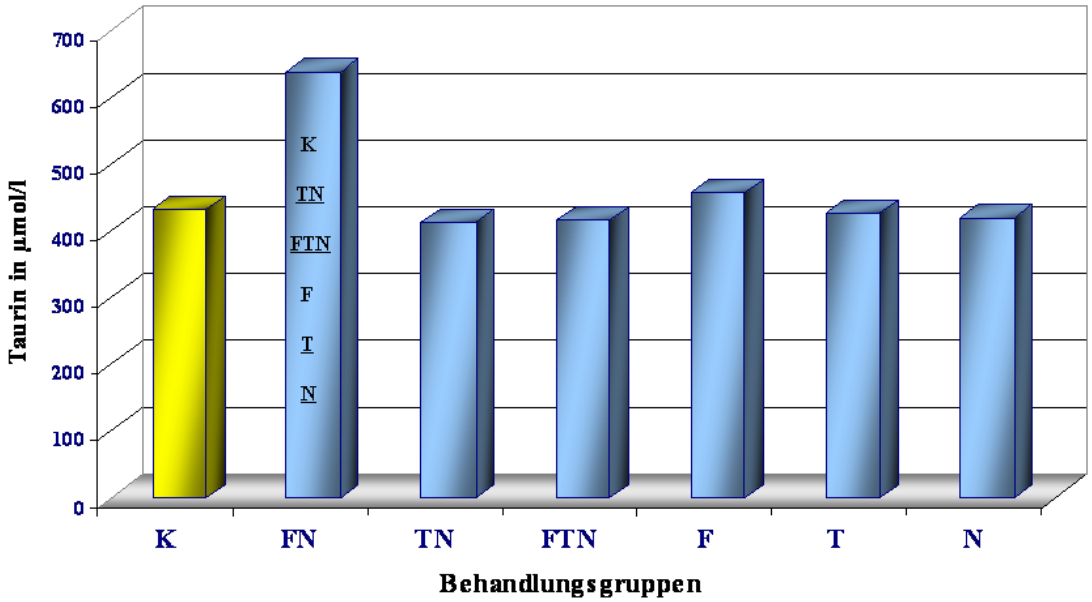

Abb. 29: Taurinkonzentration in der Amnionflüssigkeit

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	**0,022**	0,547	0,666	0,512	0,853	0,775
FN	* * *	* * *	**0,013**	**0,014**	**0,035**	**0,018**	**0,017**
TN	* * *	* * *	* * *	0,926	*0,070*	0,484	0,834
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,220	0,714	0,912
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,215	0,343
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,857
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 27: Korrelationskoeffizienten für Taurin

Bei der Aminosäure Taurin fanden sich in der Amnionflüssigkeit Konzentrationen in einem Bereich um die 415 µmol/l. Dies gilt für die Untersuchungsgruppen K, TN, FTN, F, T und N (Abb. 29). Die höchste Taurinkonzentration verzeichnete die FN-Gruppe, welche im Vergleich zwischen allen anderen Untersuchungsgruppen signifikante Unterschiede aufwies.

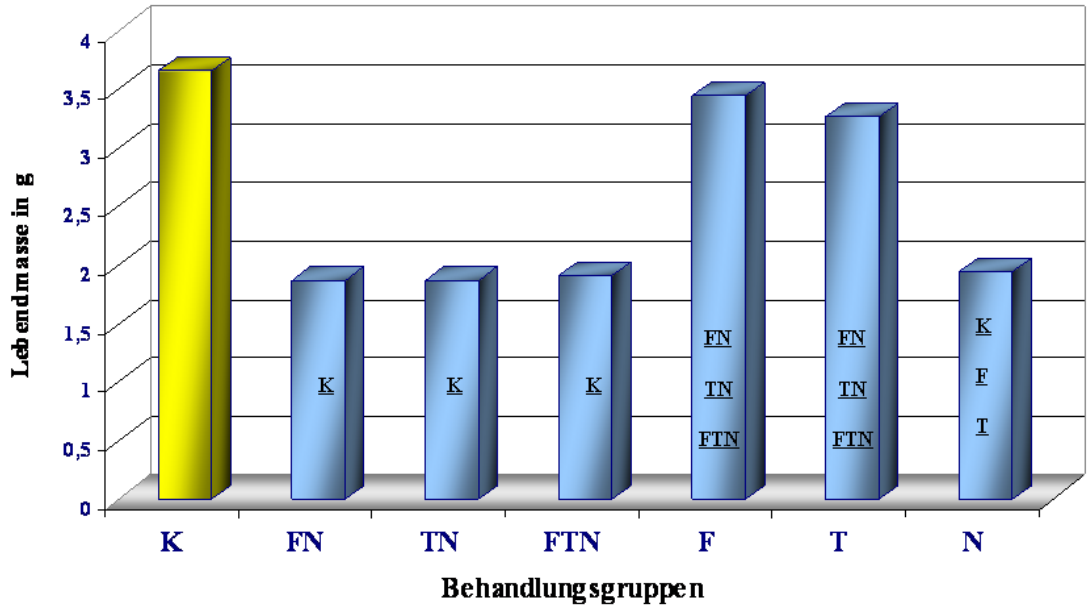

Abb. 30: Lebendmasse

Gruppe/Gruppe	Kontroll	FN	TN	FTN	F	T	N
Kontroll	* * *	**0,000**	**0,000**	**0,000**	0,517	0,228	**0,000**
FN	* * *	* * *	0,972	0,756	**0,000**	**0,000**	0,463
TN	* * *	* * *	* * *	0,767	**0,000**	**0,000**	0,462
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,000**	**0,000**	0,796
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,215	**0,000**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,000**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 28: Korrelationskoeffizienten für die Lebendmasse

Der am 21. Trächtigkeitstag in der Amnionflüssigkeit der LEW.1A Ratte bestimmte Parameter Lebendmasse zeigte in der Kontrollgruppe (K) mit 3,5 g den höchsten Wert aller Untersuchungsgruppen (Abb. 30). Die Werte in den Gruppen FN, TN, FTN und N waren im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verringert. Die Natulan®-Gruppe zeigte zudem signifikante Unterschiede im Vergleich zu den erhöhten Werten der Lebendmasse in den Gruppen F und T. Die Behandlungsgruppen F und T wiesen signifikante Lebendmassenerhöhungen im Vergleich mit den Gruppen FN, TN und FTN auf

4.3 Korrelationen Kopf- und Amnionparameter

Die Korrelationen zwischen Kopf- und Amniondaten, abgebildet in den Korrelationstabellen (Anhang), zeigten im folgenden Ergebnisse, welche zur besseren Interpretation in die Untersuchungsgruppen (K, FN, TN, FTN, F, T, N) unterteilt und unter Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit ($p \leq 0{,}01$ (dick vorgehoben und unterstrichen) und $p \leq 0{,}05$ (dick vorgehoben) aufgezeigt wurden. Die Kopfparameter definieren sich wie folgt:

Zunge: - Abstand zwischen Beginn der Augenanlagen und der Zungenspitze

C.I.M.: - Mitte des Canalis incisivus

C.I.A.: - Anfang des Canalis incisivus

C.I.E.: - Ende des Canalis incisivus

C.I.L.: - Länge des Canalis incisivus (C.I.E. – C.I.A.) **= subtotale Spalten**

Auge: - Beginn der Augenanlagen

UK MI: - Mitte des Unterkiefers

UK INC: - Beginn der UK-Incisivenanlage

OK Mol: - Länge des OK; Beginn OK-Pm-anlage – Beginn OK-Inc-anlage

UK Mol: - Länge des UK; Beginn UK-Pm-anlage – Beginn UK-Inc-anlage

Spalte: - Abstand Auge und Beginn des C. inc. **= totale Spalten**

4.3.1 K- Gruppe

In der Kontrollgruppe K liegen keine Korrelationen zwischen Kopf- und Amniondaten vor.

4.3.2 FN- Gruppe

C.I.M. korreliert negativ mit Glutaminsäure (r= -0,829) und Taurin (r= -0,829) im Bereich $p \leq 0{,}05$.

C.I.A. korreliert negativ mit Homocystein (r= -0,778) im Bereich $p \leq 0{,}05$.

C.I.E. korreliert negativ mit Glutaminsäure (r= -0,829) und Taurin (r= -0,829) mit $p \leq 0,05$.

Homocystein korreliert negativ mit dem **Auge** (r= -0,733)**, OK Mol** (r= -0,770)**, UK Mol** (r= -0,723) und **UK MI** (r= -0,711) im Bereich $p \leq 0,05$.

4.3.3 TN- Gruppe

UK INC korreliert negativ mit Glutaminsäure (r= -0,758), Alanin (r= -0,636), Asparagin (r= -0,636), Serin (r= -0,648), Glycin (r= -0,636), Threonin (r= -0,673), Histidin (r= -0,644) und Butyrat (r= -0,744) im Bereich $p \leq 0,05$.

C.I.A. korreliert mit Taurin (r= +0,648) ($p \leq 0,05$).

Das **Auge** zeigt Korrelationen mit Glutaminsäure (r= +0,702), Alanin (r= +0,659), Cystein (r= +0,635), Isoleucin (r= +0,708), Valin (r= +0,683), Histidin (r= +0,679) und Arginin (r= +0,720) ($p \leq 0,05$).

OK Mol korreliert mit Arginin (r= +0,778) ($p \leq 0,01$), sowie im Bereich $p \leq 0,05$ mit Alanin (r= +0,729), Prolin (r= +0,669), Threonin (r= +0,632), Cystein (r= +0,673), Leucin (r= +0,657), Isoleucin (r= +0,754), Valin (r= +0,742), Histidin (r= +0,646), Butyrat (r= +0,728) und Taurin (r= +0,644).

UK Mol korreliert mit Taurin (r= +0,799) ($p \leq 0,01$).

UK MI zeigt Korrelationen mit $p \leq 0,01$ mit Alanin (r =+0,821), Isoleucin (r =+0,827), Valin (r =+0,809), Histidin (r =+0,787), Arginin (r =+0,796) und Butyrat (r =+0,792), sowie im Bereich $p \leq 0,05$ mit Glutaminsäure (r =+0,644), Asparagin (r =+0,742), Prolin (r =+0,736), Serin (r =+0,736), Glycin (r =+0,742), Lysin (r =+0,650), Threonin (r =+0,760), Cystein (r =+0,731) und Leucin (r =+0,760).

Die Amnionparameter Valin (r= -0,975), Cystein (r= -0,975), Ornithin (r= -0,975) und Arginin (r= -0,975) korrelieren negativ im Bereich $p \leq 0,01$ mit der subtotalen **Spalte** (**C.I.L.**).

4.3.4 FTN- Gruppe

Die **Zunge** korreliert mit Thiocyanat (r= +0,803) ($p \leq 0,01$) und im Bereich $p \leq 0,05$ mit Glutamin (r= +0,833), Prolin (r= +0,810), Serin (r= +0,786),

Glycin (r= +0,755), Methionin (r= +0,786), Leucin (r= +0,714), Isoleucin (r= +0,714), Valin (r= +0,714), Tyrosin (r= +0,810), Phenylalanin (r= +0,714), Arginin (r= +0,810), Ornithin (r= +0,810), der Lebendmasse (r= +0,627) und der SSL (r= +0,644).

C.I.M. zeigt Korrelationen im Bereich $p \leq 0,05$ mit Alanin (r= +0,847), Asparagin (r= +0,847), Glycin (r= +0,755), Lysin (r= +0,847), Threonin (r= +0,757), Cystein (r= +0,847), Leucin (r= +0,811), Isoleucin (r= +0,811), Valin (r= +0,811), Phenylalanin (r= +0,811) und Histidin (r= +0,847).

C.I.E. korreliert mit Alanin (r= +0,847), Asparagin (r= +0,847), Glycin (r= +0,755), Lysin (r= +0,847), Threonin (r= +0,757), Cystein (r= +0,847), Leucin (r= +0,811), Isoleucin (r= +0,811), Valin (r= +0,811), Phenylalanin (r= +0,811) und Histidin (r= +0,847).

UK Mol korreliert negativ mit Glutaminsäure (r= -0,738) ($p \leq 0,05$).

UK MI korreliert negativ im Bereich $p \leq 0,05$ mit der Lebendmasse (r= -0,658).

4.3.5 F- Gruppe

UK INC korreliert nicht mit Threonin (r= -0,647) ($p \leq 0,05$).

4.3.6 T- Gruppe

Die **Zunge** korreliert mit Taurin (r= +0,592) ($p \leq 0,05$).

C.I.M. korreliert mit $p \leq 0,01$ mit Glutaminsäure (r= +0,746), Phenylalanin (r= +0,754) und Ornithin (r= +0,768), sowie im Bereich $p \leq 0,05$ mit Thiocyanat (r= +0,620), Glutamin (r= +0,697), Alanin(r= +0,704), Prolin (r= +0,600), Serin (r= +0,634), Lysin (r= +0,690), Threonin (r= +0,683), Isoleucin (r= +0,655), Valin (r= +0,634), Tyrosin (r= +0,705) und Citrullin (r= +0,583).

C.I.A. korreliert mit $p \leq 0,01$ mit Glutaminsäure (r= +0,761), Glutamin (r= +0,730), Alanin (r= +0,737), Lysin (r= +0,726), Threonin (r= +0,709), Tyrosin (r= +0,728), Phenylalanin (r= +0,775) und Ornithin (r= +0,775) sowie

im Bereich $p \leq 0,05$ mit Thiocyanat (r= +0,625), Prolin (r= +0,641), Serin (r= +0,670), Leucin (r= +0,579), Isoleucin (r= +0,684) und Valin (r= +0,670).

C.I.E. zeigt Korrelationen im Bereich $p \leq 0,01$ mit Glutaminsäure (r= +0,712), Phenylalanin (r= +0,712) und Ornithin (r= +0,737), sowie im Bereich $p \leq 0,05$ mit Thiocyanat (r= +0,579), Glutamin (r= +0,667), Alanin (r= +0,670), Serin (r= +0,600), Lysin (r= +0,656), Threonin (r= +0,649), Isoleucin (r= +0,618), Valin (r= +0,600), Tyrosin (r= +0,659) und Citrullin (r= +0,605).

Das **Auge** korreliert mit $p \leq 0,01$ mit Glutaminsäure (r= +0,727), Alanin (r= +0,713), Lysin (r= 0,713) und Ornithin (r= +0,727), sowie mit $p \leq 0,05$ mit Glutamin (r= +0,664), Prolin (r= +0,627), Serin (r= +0,615), Threonin (r= +0,650), Isoleucin (r= +0,629), Valin (r= +0,615) Tyrosin (r= +0,669), Phenylalanin (r= +0,692) und Citrullin (r= +0,649).

OK Mol zeigt Korrelationen im Bereich $p \leq 0,05$ mit Glutaminsäure (r= +0,623), Glutamin (r= +0,641), Alanin (r= +0,606), Lysin (r= +0,613), Threonin (r= +0,581), Tyrosin (r= +0,635), Phenylalanin (r= +0,644) und Ornithin (r= +0,658).

UK MI korreliert mit Tyrosin (r= +0,646), Phenylalanin (r= +0,616) und Ornithin (r= +0,623) im Bereich $p \leq 0,05$.

4.3.7 N-Gruppe

UK INC korreliert negativ mit Arginin (r= -0,608) ($p \leq 0,05$).

Die **Zunge** zeigt positive Korrelationen im Bereich $p \leq 0,05$ mit Homocystein (r= +0,599) und Vitamin B_{12} (r= +0,690), sowie negative Korrelationen mit Arginin (r= -0,581) und Citrullin (r= -0,667) ($p \leq 0,05$).

C.I.M. zeigt Korrelationen im Bereich $p \leq 0,05$ mit Prolin (r= +0,829), Serin (r= +0,829) und Glycin (r= +0,829).

C.I.A. korreliert mit Tyrosin (r= +0,751), Phenylalanin (r= +0,804) und Ornithin (r= +0,767) ($p \leq 0,01$), sowie mit Folsäure (r= +0,591), Glutamin (r= +0,683), Serin (r= +0,584), Lysin (r= +0,705) und Threonin (r= +0,630) im Bereich $p \leq 0,05$.

Das **Auge** korreliert mit Methionin (r= +0,732) und Citrullin (r= +0,809) ($p \leq 0,01$).

OK Mol korreliert mit Methionin (r= +0,648) und Citrullin (r= +0,604) ($p \leq 0,05$).

UK Mol zeigt Korrelationen im Bereich $p \leq 0,05$ mit Methionin (r= +0,583), Isoleucin (r= +0,594) und Citrullin (r= +0,620).

UK MI korreliert mit Isoleucin (r= +0,620) ($p \leq 0,05$) und Citrullin (r= +0,789) ($p \leq 0,01$).

5 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Amnionflüssigkeit bezüglich enthaltener Vitamine und Aminosäuren (2.2), des Vitaminoids Thiocyanat sowie Auswirkungen der Lebendmasse von LEW.1A Ratten am 21. Tag post conceptionem nach unterschiedlichen Modellen der Induktion und Prävention von Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalten. Hierzu wurde durch präventive Gabe von Folsäure und Thiocyanat, einzeln und in Kombination, der Einfluss auf die Entwicklung der Kiefer-Gesichtsregion der LEW.1A Ratte sowie auf die Zusammensetzung der Amnionflüssigkeit untersucht. Zur Induktion von Gaumenspalten fand das Methylhydrazin-Derivat Procarbazin (Natulan®) Anwendung.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie anhand des Parameters **Lebendmasse** (Abb. 30) zeigen, dass unter Einwirkung von Natulan®, sowohl mit als auch ohne Prävention, (Gruppen FN, TN, FTN und N) eine negative Entwicklung mit signifikanter Absenkung der Lebendmasse um ca. 50 % zu beobachten war. Die vorliegenden Daten zeigen eine signifikante Verringerung der Lebendmasse durch den Einfluss von Natulan® am 14. Trächtigkeitstag. Die alleinige Applikation von Folsäure bzw. Thiocyanat hatte keinen negativen oder positiven Effekt auf die Entwicklung der Lebendmasse der Feten im Vergleich zur Kontrollgruppe K. Dahingegen konnten *Heid* et al. (1992) sowie *Hall* und *Solehdin* (1998) anhand ihrer Untersuchungen eine Zunahme von Geburtsgewicht und -größe durch Folsäuregabe zeigen. Zudem bewirkt die separate Applikation von Folsäure bzw. Thiocyanat eine signifikante Erhöhung der Lebendmasse im Vergleich mit den Präventionsgruppen (FN, TN und FTN). Die Mittelwerte der Lebendmassen der Feten der Präventionsgruppen FN, TN und FTN unterschieden sich nicht signifikant von denen der Gruppe N, sodass für die verabreichten Wirkstoffe Folsäure bzw. Thiocyanat die Vermutung nahe liegt, dass sie möglicherweise keinen bzw. einen nur unwesentlichen Einfluss auf den betrachteten Parameter ausüben.

Eine mögliche Ursache des von mir beobachteten Effekts könnte durch die im Vergleich mit anderen Studien empfohlene perikonzeptionelle Folsäureapplikation (*Butterworth* und *Bendich* 1996; *Czeizel* 1998; *BgVV* und *BZgA* 2001; *DGE* 2002) in meinen Untersuchungen ausschließlich postkonzeptionelle und damit vermutlich während der teratogenen Phase zu späte und möglicherweise nicht im notwendigen Umfang erfolgte Folsäureapplikation bedingt sein. Zudem kann über die exakte Dosierung der verabreichten Wirkstoffe im Sinne von Überangebot bzw. Mangel und die daraus resultierende Beeinflussung der Lebendmasse spekuliert werden. Anhand eigener Studienergebnisse konnte kein präventiver Effekt von Folsäure, wie auch Thiocyanat auf die Entwicklung der Lebendmasse von LEW.1A Rattenfeten am 21. Trächtigkeitstag beobachtet werden.

Eine signifikant verringerte **Homocystein**konzentration in der Amnionflüssigkeit konnte in der Präventionsgruppe TN nach Anwendung von Natulan® kombiniert mit Thiocyanat im Vergleich zu allen Studiengruppen mit Ausnahme der F-Gruppe beobachtet werden. Für Letztere (p= 0,159) konnte kein statistischer Nachweis erbracht werden. Die Präventionsgruppen (FN, TN, FTN) zeigten unterschiedliche Auswirkungen auf die Homocysteinkonzentration in der Amnionflüssigkeit. Die Kombination aus Folsäure und Natulan® (Gruppe FN) bewirkte die höchste Homocysteinkonzentration der Studie, welche jedoch (außer zur TN-Gruppe) nicht statistisch nachgewiesen werden konnte. Diesen Sachverhalt stützen Untersuchungen, bei denen sich erhöhte Homocysteinspiegel bzw. reduzierte S-Adenosylmethioninspiegel durch zusätzliche Folsäure- bzw. Vitamin-B_{12}-Gaben kompensieren ließen (*Hages* 1996). Die Kombination beider zu untersuchenden Präventivwirkstoffe in der Gruppe FTN führte im Vergleich zu den anderen Studiengruppen zu keinen signifikanten Unterschieden (mit Ausnahme der TN-Gruppe). Im Vergleich zur Präventionsgruppe FN ließ sich eine tendenzielle Erniedrigung der Homocysteinkonzentration (p= 0,083) in der Gruppe FTN feststellen. Nach *Weingärtner* et al. (2003_a) kommen Hyperhomocysteinämien auch als Auslöser von embryonalen Fehlbildungen, Herzinfarkten, Schlaganfällen sowie Plazentaablösungen in Betracht. Zudem wies *Hages* (1996) nach, dass durch die Zufuhr von Folsäure die teratogene Wirkung signifikant reduziert wird. Die vorliegenden

Untersuchungsergebnisse in Bezug auf das Homocystein in der Amnionflüssigkeit lassen vermuten, dass Natulan® die positive Wirkung der Folsäure negativ beeinflusst und ggf. die positive Wirkung von Thiocyanat noch verstärkt. Dem widersprechen jedoch Studien von *Weingärtner* et al. (2003_a, 2004_b), nach denen Thiocyanat während der kritischen Wachstumsphase aufgrund des Einflusses auf die Membranstabilität als Carrier für teratogene und toxische Substanzen fungieren kann. Natulan® einzeln appliziert führte allerdings, wie auch die separate Applikation von Folsäure bzw. Thiocyanat im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer nahezu identischen Homocysteinkonzentration, sodass diesbezüglich nach separater Applikation keine Hinweise für einen möglichen Einfluss auf den Parameter Homocystein erbracht werden konnten. Dies steht im Kontrast mit Studien, die erklären, dass durch die Folsäureversorgung, das Konzentrationsniveau des Homocysteins beeinflusst und das Fehlbildungsrisiko möglicherweise gesenkt wird (Hages et al. 1995). Das Ursachengefüge ist jedoch unklar.

Anhand vorliegender Untersuchungsergebnisse zeigten sich innerhalb der Präventionsgruppen Unterschiede. So führte die kombinierte Applikation von Folsäure und Natulan® (Gruppe FN) im Vergleich zur kombinierten Applikation von Thiocyanat und Natulan® (Gruppe TN) zu einer Konzentrationserhöhung des **Vitamin B_{12}** (p= 0,060). Zudem deutete sich in der Gruppe FN verglichen mit separater Folsäureapplikation (Gruppe F) ein statistischer Zusammenhang (p= 0,092) tendenziell an. Für die Präventions-gruppe TN ergab sich eine tendenzielle Erniedrigung (p= 0,096) der Vitamin B_{12}-Konzentration verglichen mit der Kontrollgruppe. Die kombinierte Anwendung von Folsäure und Thiocyanat in Gruppe FTN zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zwischen den Versuchsgruppen. Lediglich im Vergleich mit der Thiocyanat-Gruppe (T) war eine statistische Tendenz (p= 0,068) zu beobachten. Die separate Applikation von Thiocyanat (Gruppe T) bewirkte eine signifikante Verringerung der Vitamin B_{12}-Konzentration im Vergleich zur Kontroll- sowie zur Präventivgruppe FN. Vitamin B_{12} dient der Umlagerung von Alkylresten sowie der Methylierung von Homocystein. Thiocyanat separat angewandt scheint sich negativ auf die Vitamin B_{12}-Konzentration auszuwirken.

Natulan® bzw. Folsäure separat appliziert zeigten keine wesentlichen Effekte auf die Vitamin B_{12}-Konzentration. Das Ursachengefüge ist jedoch unklar.

Die Untersuchung der **Folsäure**konzentration wies in der F-Gruppe auf eine signifikante Verringerung im Vergleich mit der Kontroll- und Natulan®-Gruppe hin. Zu erwarten war in allen Versuchsgruppen, bei denen zusätzlich Folsäure appliziert wurde (FN, FTN und F) naturgemäß ein Anstieg der Folsäurekonzentration in der Amnionflüssigkeit, welcher in den beiden erstgenannten Gruppen erkennbar war. Kausale Zusammenhänge des zur Kontroll- und N-Gruppe signifikanten Abfalls der Folsäurekonzentration in der F-Gruppe sind jedoch unklar. Nach Gabe von Natulan® und Thiocyanat einzeln sowie auch kombiniert (Gruppen T, N, TN), kam es zu Verringerungen der Folsäurekonzentration in der Amnionflüssigkeit verglichen mit der Konzentration in der Kontrollgruppe, jedoch keine Signifikanz nachweisbar. Für den Parameter Folsäure konnte kein signifikanter präventiver Effekt beobachtet werden. Unbestritten ist die Notwendigkeit einer ausreichenden perikonzeptionellen Folsäureversorgung zur Prävention von Neuralrohrdefekten und Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalten, auch wenn der Wirkungsmechanismus für die Fehlbildungsentstehung aufgrund von Folsäuremangel nicht gänzlich geklärt ist (*Weingärtner* et al. 2003_b). Gleichermaßen deuten die Ergebnisse der Untersuchungen von *von Hörsten* und *Pelz* (1996) sowie von *Hol* et al. (1998) darauf hin, dass die Verabreichung von mit Multivitaminpräparaten (einschließlich Folsäure) angereicherten Nahrungsmitteln zur Prävention von Neuralrohrdefekten als auch von LKGS geeignet sind. So konnten *Tolarova* und *Harris* (1995) eine Verringerung von LKGS durch Gabe von Multivitaminen mit Folsäure um 65 % nachweisen.

Das Vitaminoid **Thiocyanat** zeigte in allen Behandlungsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigte Konzentrationen. Erwartungsgemäß hätten in den Versuchsgruppen, bei denen zusätzlich Thiocyanat appliziert wurde (Gruppen TN, FTN und T) höhere Thiocyanatkonzentrationen gemessen werden sollen, was sich jedoch nicht bestätigte. Nach separater sowie kombinierter Applikation von Folsäure, Thiocyanat und Natulan® in den Gruppen F, T, TN und FTN konnten signifikante Verringerungen der Thiocya-

natkonzentrationen im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet werden. In der Natulan®-Gruppe war dieser Effekt nur tendenziell nachweisbar (p= 0,063). Die Kombination aus Folsäure und Natulan® erbrachte keinen signifikanten Zusammenhang. Ein signifikanter, die Thiocyanatkonzentration herabsenkender Effekt ließ sich in der Präventionsgruppe FTN verglichen mit der Natulan®-Gruppe (N) nachweisen. Die Zusammenhänge der gewonnenen Daten sind noch ungeklärt.

Die Bestimmung der **Glutaminsäure**konzentration in der Amnionflüssigkeit zeigte in der Präventivgruppe FN einen um etwa das Vierfache erhöhten Wert im Vergleich zur Kontrollgruppe (p= 0,064). Ein statistischer Zusammenhang zur FN-Gruppe konnte im Vergleich mit den Untersuchungsgruppen TN (p= 0,082), FTN (p= 0,072) und T (p= 0,098) nur tendenziell nachgewiesen werden. Die alleinige Applikation von Folsäure (Gruppe F) führte zu keinen signifikanten Unterschieden zu den kombinierten Applikationsformen in den Untersuchungsgruppen FN und FTN. Nach separater Applikation von Thiocyanat (Gruppe T) war eine Erhöhung der Glutaminsäurekonzentration verglichen mit der Kontrollgruppe (p= 0,077) zu beobachten. Die separate Applikation von Natulan® (Gruppe N) erbrachte den Nachweis einer signifikanten Erhöhung der Glutaminsäurekonzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe K. Dieser Beobachtung, welche eine gegenseitige Beeinflussung von Folsäure und Natulan® mit dem Ergebnis hoher Glutaminsäurekonzentrationen vermuten lässt, sollte in weiteren Studien gezielt nachgegangen werden.

Interessante Ergebnisse bzgl. der sauren Aminosäuren **Glutamin** und **Asparagin** waren in der Präventivgruppe FTN zu beobachten, welche signifikante Verringerungen der Konzentrationen im Vergleich zu den Gruppen T und N, sowie zur Kontrollgruppe aufwiesen. Dieser Effekt deutete sich für die Aminosäure Glutamin auch im Vergleich mit der FN-Gruppe an (p= 0,093). Die Präventionsgruppe TN zeigte keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Asparaginkonzentration der FN-Gruppe war im Vergleich zur FTN-Gruppe signifikant erhöht und verglichen mit der Folsäuregruppe (F) erhöht (p= 0,095).

Folsäure einzeln appliziert führte zu einer signifikanten Verringerung der Konzentrationen an Glutamin und Asparagin im Vergleich zur Natulan®-Gruppe (N). Dieser Effekt zeigte sich tendenziell (p= 0,057) für die Asparaginsäure im Vergleich zur Kontrollgruppe. Thiocyanat separat appliziert (Gruppe T) führte zu keinem signifikanten Effekt bzgl. der Asparagin- und Glutaminkonzentration in der Amnionflüssigkeit im Vergleich mit den anderen Versuchsgruppen sowie der Kontrollgruppe. Lediglich für die Aminosäure Glutamin zeichnete sich eine Tendenz (p= 0,084) verglichen mit der Natulan®-Gruppe ab. Die Zusammenhänge der gewonnenen Daten sind noch ungeklärt und vor allem für die Substanz Folsäure vielversprechend.

Die Daten der untersuchten neutralen Aminosäuren **Alanin**, **Serin**, **Glycin**, **Threonin**, **Leucin**, **Isoleucin** und **Valin** ergaben in der Präventivgruppe FTN die niedrigsten Konzentrationen im Vergleich zwischen allen anderen Untersuchungs- und Behandlungsgruppen, welche zudem im Vergleich zur Natulan®-Gruppe (N) signifikant erniedrigt waren. Für Alanin, Serin und Glycin war zusätzlich eine signifikante Verringerung im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtbar. Die Aminosäure Glycin zeigte zudem in der Präventivgruppe FTN eine signifikante Konzentrationserniedrigung im Vergleich zu separat applizierter Folsäure und Thiocyanat (Gruppen F und T). Für die Aminosäure Alanin war lediglich eine Tendenz im Vergleich zur T-Gruppe in der Präventionsgruppe FTN erkennbar (p= 0,089). Für die Aminosäure Threonin waren in der Gruppe FTN tendenziell Konzentrationserniedrigungen im Vergleich zur Kontrollgruppe (p= 0,081), sowie zu den Gruppen FN (p= 0,066), TN (p= 0,093) und zur Gruppe T mit p= 0,096) nachweisbar. Leucin zeigte zudem in der FTN-Gruppe eine statistische Tendenz verglichen mit der TN-Gruppe (p= 0,062). Die Behandlungsgruppen F und T ergaben im Vergleich zur Natulan®-Gruppe (N) signifikante Konzentrationserniedrigungen für die Aminosäuren Alanin, Serin, Leucin, Isoleucin und Valin. Für Threonin konnte dieser signifikante Effekt nur nach separater Applikation von Folsäure nachgewiesen werden und in der Folsäure- Gruppe (F) war im Vergleich zur FN-Gruppe nur eine Tendenz zur Konzentrationserniedrigung der Aminosäure Threonin erkennbar mit p= 0,091. Die Präventivgruppe FN zeigte im Vergleich mit der Präventivgruppe FTN signifikante

Konzentrationserhöhungen bei folgenden sauren Aminosäuren: Alanin, Serin, Glycin, Leucin, Isoleucin und Valin. Die Leucin-, Isoleucin- und Valinkonzentrationen waren in der Präventivgruppe FN im Vergleich zur F-Gruppe signifikant erhöht. Für die Aminosäuren Alanin (p= 0,083) und Serin (p= 0,084) deutete sich der letztgenannte Effekt lediglich an. Die Präventivgruppe TN ergab für die Aminosäuren Alanin und Glycin außerdem signifikant erhöhte Konzentrationen im Vergleich mit der Präventivgruppe FTN. Dieser Zusammenhang war für die Aminosäuren Serin (p= 0,089), Isoleucin (p= 0,070) und Valin (p= 0,062) nur tendenziell nachzuweisen. Die Aminosäure Isoleucin zeigte im Vergleich zur F-Gruppe in der Präventionsgruppe TN eine signifikante Konzentrationserhöhung. Dieser Effekt war auch bezogen auf Valin (p= 0,092) zu beobachten. Zudem zeigte Valin in der Natulan®-Gruppe (N) eine signifikant erhöhte Konzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe. Gleiches war tendenziell auch für die Aminosäure Isoleucin mit p= 0,095 erkennbar. Dies lässt den Schluss zu, dass Folsäure und Thiocyanat separat appliziert bereits zu einer Erniedrigung der o.g. Aminosäurekonzentrationen führt. Dieser Effekt wird lediglich in der Kombination der Präventivstoffe in der Untersuchungsgruppe FTN verstärkt, nicht aber in den Präventivgruppen FN und TN. Aufschlussreich sind ggf. weiterführende Untersuchungen unter Berücksichtigung einer separaten FT-Gruppe.

Für die heterozyklischen Aminosäuren **Prolin** und **Histidin** ergaben sich, wie auch bei den o.g. sauren Aminosäuren, die niedrigsten Konzentrationen in der Amnionflüssigkeit in der Präventionsgruppe FTN. Signifikante Unterschiede (erniedrigte Konzentrationen) zeigten sich im Vergleich zur Natulan®-Gruppe in den Behandlungsgruppen FTN, F und T. Die Präventionsgruppe FN wies eine signifikante Erhöhung im Vergleich mit den Gruppen FTN und F, im Fall des Prolins zusätzlich auch gegenüber der Folsäuregruppe auf. Der Präventionsversuch mit einer Kombination aus Thiocyanat und Natulan® (Gruppe TN) führte bei beiden heterozyklischen Aminosäuren zu einem signifikanten Anstieg der Konzentrationen im Vergleich zur Folsäuregruppe. Zusätzlich war ein signifikanter Abfall der Histidinkonzentration in der Präventivgruppe FTN verglichen mit der TN-Gruppe nachweisbar, sowie bezogen auf Prolin tendenziell mit p= 0,077.

Die separate Applikation von Folsäure in der F-Gruppe ließ Tendenzen sowohl für Prolin (p= 0,089) als auch für Histidin (p= 0,097) im Vergleich zur Kontrollgruppe erkennen. Ebenso war ein statistischer Zusammenhang tendenziell für Histidin (p= 0,080) in der N-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe nachweisbar. Ein deutlicher konzentrationsabsenkender Effekt der kombinierten Applikation von Folsäure, Thiocyanat und Natulan® (Gruppe FTN) im Vergleich zur separaten Prävention (Gruppen FN und TN) zeichnet sich ab. Die Auswirkungen einer kombinierten Gruppe FT wären für eine zukünftige Analyse untersuchenswert.

Für die basische Aminosäure **Lysin** waren in den Präventionsgruppen FN und TN ähnliche Konzentrationen wie in der Natulan®- und Kontrollgruppe nachweisbar. Die untersuchten Präventionsgruppen unterschieden sich tendenziell, so dass Unterschiede in den Gruppen FN (p= 0,064) und TN (p= 0,085) im Vergleich zur Gruppe FTN erkennbar wurden. Nach separater Applikation von Folsäure und Thiocyanat (Gruppen F und T), sowie in der Präventionsgruppe FTN ergaben sich signifikant erniedrigte Konzentrationen im Vergleich zur Natulan®-Gruppe (N). In der Natulan®-Gruppe deutete sich ein Unterschied (p= 0,074) im Vergleich zur Kontrollgruppe lediglich an. Die Präventionsgruppe FTN, sowie die Behandlungsgruppen mit separat applizierter Folsäure bzw. Thiocyanat (F und T) bewirkten signifikant erniedrigte **Methionin**konzentrationen im Vergleich zur Natulan®- und Kontrollgruppe. Die Präventionsgruppen FN und TN verhielten sich konträr, während TN signifikant erhöhte Konzentrationen im Vergleich zur FTN- und F-Gruppe ergab und im Vergleich zur Gruppe T (p= 0,077) tendenziell erkennen ließ, waren für die Präventionsgruppe FN signifikant erniedrigte Methioninkonzentrationen verglichen mit der Natulan®-Gruppe (N) nachweisbar. Während die Applikation von Folsäure und Thiocyanat (Gruppen FN, FTN, F und T) einen methionin-konzentrationsabsenkenden Effekt zu haben scheint, bewirkt die gleichzeitige Applikation von Natulan® und Thiocyanat einen gegenteiligen Behandlungseffekt. Wider Erwarten waren die Methioninkonzentrationen in den Gruppen, in denen zusätzlich Folsäure appliziert wurde (FN, FTN und F) die geringsten. Methionin entsteht bei der folsäure- und vitamin B_{12}-abhängigen Remethylierungsreaktion des Homocysteins (Abb. 2.)

(*Stanger* et al. 2003; *Hofmann* 2006). Vermutlich sind dafür weiterführende Reaktionen, wie die Bildung von Cystathionin aus Homocystein unter Beteiligung des Vitamin B_6 sowie Cystein und Homoserin verantwortlich. Ebenso wären Störungen im Homocysteinstoffwechsel, wie die, embryonale Fehlbildungen auslösende, Hyperhomocysteinämie, bei der es zum Stillstand des Methylierungszyklus und zu einem Anschoppen von Homocystein kommt (*Nguyen* et al. 2001) durch z.B. Mangelzustände der beteiligten Vitamine B_6, B_{12} und Folsäure denkbar (*Weingärtner* et al. $2003_{a,d}$, 2005). *Weingärtner* et al. (2005) zeigten in ihren Versuchen, dass bereits ein 2-wöchiger Vitamin B_6-Mangel (in 89% der Fälle) im Vergleich zum Folsäuremangel (in 27% der Fälle) signifikant häufiger zu einer Hyperhomocysteinämie führt. In der Literatur sind Informationen zu finden, wonach der eigentliche präventive Wirkungsmechanismus von Folsäure bezüglich kongenitaler Fehlbildungen umstritten ist. So stellten *Essien* und *Wannberg* (1993) in ihren Untersuchungen an Mäusen durch Methioningabe eine 41 %ige Defektreduktion fest und machen somit nicht Folsäure oder Vitamin B_{12}, sondern das Methionin für die protektiven Effekte verantwortlich. Auch *Hages* (1996) vermutet eine Abhängigkeit des Neuralrohrschlusses von der intrazellulären Methioninkonzentration.

Die **Cystein-** und **Cystathionin**konzentrationen waren in der Präventionsgruppe FTN und der Behandlungsgruppe F signifikant verringert verglichen mit der Natulan®-Gruppe (N). Die Präventionsgruppe FTN ergab zudem im Vergleich zur Gruppe T signifikant verringerte und im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p= 0{,}087$) tendenziell verringerte Cystathioninkonzentrationen. Nach separater Folsäureapplikation zeigte sich eine signifikant verringerte Cysteinkonzentration verglichen mit separat appliziertem Thiocyanat (Gruppe T), sowie im Vergleich mit der N-Gruppe signifikant verringerte Cystein- und Cystathioninkonzentrationen. Ein derartiger Effekt war tendenziell in der Behandlungsgruppe T (nach separater Applikation von Thiocyanat) ausschließlich für die Aminosäure Cystein im Vergleich mit der N-Gruppe ($p= 0{,}069$) erkennbar. Natulan® separat appliziert (Gruppe N) bewirkte eine signifikante Erhöhung der Cysteinkonzentration verglichen mit der Kontrollgruppe. Die Präventionsgruppen FN und TN zeigten signifikant erhöhte Cysteinkonzentrationen im

Vergleich mit der Folsäuregruppe, sowie die TN-Gruppe zusätzlich zur Präventionsgruppe FTN. Dieser Effekt deutete sich bei der Aminosäure Cystein in der Präventionsgruppe FN im Vergleich zur FTN-Gruppe (p= 0,070), sowie in der TN-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (p= 0,069) nur an. Für Cystathionin konnten nach Applikation von Folsäure und Natulan® (Gruppe FN) im Vergleich zur Präventionsgruppe FTN eine signifikant erhöhte Konzentration nachgewiesen werden. Die TN-Kombination ergab verglichen mit der Natulan®-Gruppe (N) signifikant verringerte Cystathioninkonzentrationen.

Für die aromatischen Aminosäuren **Tyrosin** und **Phenylalanin** waren in der Präventionsgruppe FTN die niedrigsten Konzentrationen aller untersuchten Gruppen, signifikant im Vergleich mit der Natulan®-Gruppe (N) zu finden. Tyrosin zeigte zudem eine signifikante Konzentrationserniedrigung im Vergleich mit der Kontroll- und der T-Gruppe, sowie eine Tendenz verglichen mit der Folsäureguppe (F) mit p= 0,082. Die Konzentrationen in den Präventionsgruppen FN und TN waren im Vergleich zur FTN-Gruppe erhöht. Für die Kombination Thiocyanat und Natulan® (Gruppe TN) war die Erhöhung der Tyrosinkonzentration signifikant nachweisbar, die des Phenylalanins nur tendenziell erkennbar (p= 0,086). Eine Tendenz zeigte sich auch in der Präventionsgruppe FN im Vergleich zur Präventionsgruppe FTN (p= 0,068) für die Aminosäure Tyrosin. Nach separater Applikation von Folsäure und Thiocyanat (Gruppen F und T) waren signifikante Konzentrationserniedrigungen verglichen mit der Natulan®-Gruppe (N) (mit Ausnahme der Gruppe T bzgl. der Tyrosinkonzentration) ersichtlich.

In der Präventionsgruppe FTN waren die niedrigsten **Arginin**konzentrationen, signifikant im Vergleich mit der N- und der T-Gruppe, sowie tendenziell im Vergleich mit der Kontrollgruppe (p= 0,061) und der TN-Gruppe (p= 0,072) nachweisbar. Die anderen Behandlungsgruppen (FN, TN, F, T und N) hatten keinen negativen oder positiven Effekt auf die Argininkonzentration.

Ornithin und **Citrullin** zeigten in der Präventionsgruppe FTN die niedrigsten Konzentrationen im Vergleich zwischen allen Behandlungsgruppen. Ornithin war verglichen mit der Natulan®-Gruppe (N) signifikant erniedrigt und Citrullin

im Vergleich mit den Gruppen F und T, sowie tendenziell auch im Vergleich zur N-Gruppe (p= 0,076). Die Ornithinkonzentration in der Amnionflüssigkeit war in der Natulan®-Gruppe (N) im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. Die Präventionsgruppe TN zeigte für die Aminosäure Ornithin Tendenzen im Vergleich zur N-Gruppe (p= 0,098), sowie für Citrullin im Vergleich mit der Präventionsgruppe FTN (p= 0,067). Eine weitere Tendenz war für Ornithin nach separater Applikation von Folsäure (Gruppe F) verglichen mit der N-Gruppe (p= 0,072) erkennbar. Für die Präventionsgruppe FN war für beide Aminosäuren die höchste Konzentration ermittelbar, jedoch nicht signifikant.

Butyrat zeigte in der Präventionsgruppe FTN die geringste Konzentration, signifikant verglichen mit der Folsäuregruppe (F). Eine signifikante Erhöhung nach separater Applikation von Folsäure (Gruppe F) verglichen mit der Präventionsgruppe TN deutete sich lediglich an (p= 0,072). Für die anderen Untersuchungsgruppen war kein negativer oder positiver Effekt auf die Butyratkonzentration nachweisbar. Kausale Zusammenhänge sind noch unklar.

Die Aminosäure **Taurin** ergab in der Präventionsgruppe FN die höchste Konzentration und wies signifikante Unterschiede zu allen anderen Versuchsgruppen auf. Folsäure allein appliziert verursachte eine zur Kontrollgruppe leicht erhöhte Konzentration, während die Taurinkonzentrationen der anderen Gruppen bezogen auf die K-Gruppe verringert waren, sich jedoch nicht signifikant unterschieden. Tendenziell ist eine verringerte Konzentration in der Präventionsgruppe TN im Vergleich zur Folsäuregruppe beobachtbar (p= 0,070). Das wirft die Vermutung auf, dass die Kombination von Folsäure und Natulan® einen gravierenden Einfluss auf die Taurinkonzentration in der Amnionflüssigkeit hat.

Bei vorliegender Arbeit basiert die Spaltinduktion auf dem Procarbazin Natulan®. Für die Aufklärung von Kausalbeziehungen in der Ätiologie von LKGS ist der Tierversuch von besonderer Bedeutung, aber auf diesem Gebiet bestehen experimentelle Schwierigkeiten, denn das Auftreten von LKGS ist schon bei zwei miteinander nahe verwandten Laboratoriumsnagergattungen wie Mäusen und Ratten unterschiedlich. So berichten *Pfeifer*

und *von Kreybig* (1973) von Mäusestämmen, die eine hereditär bedingte hohe LKGS- bzw. G-Rate haben. *Westermann* und *Merker* (1981) stellen ferner die Frage, ob ein relativ einfaches Tiermodell, bei dem durch eine einzige Substanz eine bestimmte Spaltform induziert wird, überhaupt je auf humane Verhältnisse übertragbar sein kann, bei denen es sich – wie bei der Kiefer-Gesichtsspalten-Entstehung – um komplizierte multifaktorielle genetische Syteme handelt. *Westermann* und *Merker* (1981) machen deutlich, dass Spontanbildungen bei Laboratoriumsmäusen keine Seltenheit sind, jedoch bei der Ratte und anderen Nagern Missbildungen im Sinne von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten, wenn überhaupt, dann nur schwer zu erzeugen sind. Sie legen nahe, dass der Mensch in seiner Empfindlichkeit der Ratte wesentlich näher zu kommen scheint als der Maus. Auch *Pfeifer* und *von Kreybig* (1973) beschreiben das Auftreten von Fehlbildungen bei Ratten im teratologischen Experiment als relativ selten und wenn, dann vielfach in Verbindung mit komplexen Syndromen. Da die Teratogenität sowohl qualitativ als auch quantitativ von Spezies zu Spezies verschieden ist, sind Tierversuche nicht ohne Vorbehalt auf den Menschen übertragbar. Teilweise können die Unterschiede bei Mensch und Tier auch dadurch erklärt werden, dass die im Tierexperiment verwendeten hohen Dosen beim Menschen nie angewandt werden (*Mutschler* 2001). In diesem Zusammenhang muss darauf hingewiesen werden, dass die Ratte im Vergleich zum humanen Organismus eine geringere Lebendmasse, aber in Relation dazu eine größere Körperoberfläche und höhere Stoffwechselrate aufweist. Dadurch bedingt, kommt es im Rattenorganismus im Gegensatz zum Menschen zu einem wesentlich schnelleren Abbau vergleichbarer Wirkstoffkombinationen (*Martens* 2003). Eine vorsichtige Interpretation und Übertragung der tierexperimentellen Ergebnisse auf den menschlichen Feten sind jedoch erlaubt, da die Grundzüge des Proteinstoffwechsels sicherlich vergleichbar sind (*Schreier* und *Porath* 1970; *Sereni* und *Luppis* 1968). Monogame Säugetiere, vor allem Ratten, dienen aufgrund der vergleichbaren Resorptions- und Transportprozesse, sowie Strukturgemeinsamkeiten der Plazenten als gut geeignet, um auf menschliche Parameter übertragen zu werden (*Weingärtner* et al. 2003_c). *Weingärtner* et al. (2003_c) nehmen passive Transportvorgänge von Homocystein und Folsäure durch die

Plazenta in den fetalen Blutkreislauf an, was durch Vergleiche humaner mütterlicher und fetaler Blutwerte bestätigt werden kann. *Schubert* und *Schmidt* (1985) ergänzen, dass obwohl die Übertragung tierexperimenteller Ergebnisse auf den Menschen außerordentlich problematisch ist, doch vorsichtige Rückschlüsse möglich bzw. bestimmte, aus der klinischen Erfahrung vermutete Tendenzen nachvollziehbar sind. *Shepard* (1986) konnte für Labortiere über 900 Agenzien mit teratogener Wirkung beschreiben, für den Menschen jedoch kaum 30 Wirkstoffe mit diesem Effekt zusammenfassen. Nach *Franke* (1969) hat einerseits die Plazenta der Ratte mit der des Menschen eine Reihe von Strukturmerkmalen gemeinsam, andererseits wird die Bearbeitung eines Teiles der Probleme der Grundlagenforschung immer auf den Tierversuch beschränkt bleiben müssen.

Somit sind auch die anhand vorliegender Arbeit erzielten Ergebnisse nur mit Zurückhaltung auf den Menschen übertragbar und letztendlich weitere Tiermodelle zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der ermittelten Ergebnisse sinnvoll. Die Behandlung und Nachsorge von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten erfordern in der Regel mehrere Operationen über mehrere Jahre und verursachen neben physischen und psychischen Belastungen des Betroffenen und seines Umfeldes im Einzelfall hohe Kosten. Somit trägt auch der ökonomische Faktor zur Notwendigkeit weiterer Forschungen zur pränatalen Induktion der genannten Fehlbildungen und der daraus erwachsenden Möglichkeiten einer gezielten Prävention bei (*Weingärtner* et al. 2003_b).

In weiterführenden Untersuchungen wäre zur besseren Interpretation der Beziehungen zwischen Folsäure und Thiocyanat kombiniert, wie auch zusammen mit Natulan® als FTN, die Einbeziehung einer Gruppe FT zu überdenken. So kann vermutlich die protektive Folsäurewirkung durch Thiocyanatgabe potenziert werden und zukünftig eine exaktere (evtl. individuell angepasste) Dosierung erreicht sowie eine mögliche Überdosierung von Folsäure vermieden werden. Speziell angelegte Tierversuche sowie epidemiologische Untersuchungen am Menschen

können auch weiterhin dazu beitragen, die Vielzahl von Ursachen für die Entstehung von LKGS näher einzugrenzen.

Abschließend soll der Frage nachgegangen werden, wie hoch die Aussagekraft, Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der erzielten Ergebnisse eingeschätzt werden kann. Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der ermittelten Ergebnisse wären weitere Untersuchungen der Amnionflüssigkeit anhand von Tiermodellen empfehlenswert. Die Länge des Paarungszeitraumes von 4 Stunden, der bereits gegenüber anderen Versuchen reduziert ist, hat Auswirkungen auf die Entwicklung der Feten und somit evtl. auf die Auswirkungen der Wirkstoffapplikation. So sollten Versuche mit kürzeren Paarungszeiträumen folgen, um diese Unterschiede zu minimieren und mögliche Auswirkungen des Entwicklungsstandes genauer zu erforschen. Zudem sollten Untersuchungen bei perikonzeptioneller Wirkstoffapplikation unter Testung verschieden hoher Dosen der Präventionswirkstoffe durchgeführt werden, um mögliche klinisch erzeugte Mangel- und Überangebotszustände zu evaluieren. Dass Wirkstoffe an unterschiedlichen Tagen verschieden starke Effekte hervorrufen, zeigten bereits Studien von *Chaube* (1975), so dass Testungen bezüglich des spezifischen Zeitpunktes der Applikation für einen optimierten Wirkungseffekt möglicherweise erfolgversprechend sind. Aufgrund der Beteiligung des Thiocyanates an Membranaktivitäten (*Weuffen* und *Decker* 2004) kann womöglich die protektive Wirkung der Folsäure durch Kombination mit Thiocyanat deutlich verstärkt werden, was Applikationen von vergleichsweise niedrigen Folsäuredosen trotz hoher präventiver Effektivität bedingen könnte.

Aufgrund der geringen Mengen je Fetus sind Schwierigkeiten bei der Gewinnung von Amnionflüssigkeit vermutlich kaum auszuschließen. Um die Auswirkungen möglicher Fehler möglichst zu kompensieren, wäre eine Erhöhung der Anzahl der Versuchstiere zu empfehlen.

6 Zusammenfassung

In vorliegender Arbeit wurden Zusammenhänge zwischen der Amnionflüssigkeit sowie embryonaler Kopfdaten am Beispiel der LEW.1A Ratte am 21. Tag post conceptionem untersucht.

Wir wollten der Frage nachgehen, ob speziell durch folat- und thiozyanatreiche Ernährung Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalten präventiv zu behandeln sind.

Analysiert wurden die Auswirkungen des Vitamins Folsäure (F), des Vitaminoids Thiocyanat (T) sowie der spaltauslösenden Substanz Procarbazin in Form von Natulan® (N) einzeln und in Kombination, um auch möglicherweise bestehende Beeinflussungen von F und/ oder T zu untersuchen.

Anhand von 6 Versuchsgruppen (FN-Gruppe, TN-Gruppe, FTN-Gruppe, F-Gruppe, T-Gruppe, N-Gruppe) sowie der unbehandelten Kontrollgruppe (K) wurden die Auswirkungen auf die Zusammensetzung der Amnionflüssigkeit (zuvor definierte Parameter, u.a. Vitamine und Aminosäuren) sowie die Induktion und Prävention von Lippen-Kiefer-Gaumen-Segel-Spalten (LKGS) untersucht.

Die Amnionflüssigkeit wurde am 21. Tag post conceptionem durch Amnionpunktion aller Feten als Sammelprobe gewonnen und die enthaltenen Konzentrationen der Vitamine Folsäure, Vitamin B_{12} und des Vitaminoids Thiocyanat sowie die Konzentrationen der 22 Aminosäuren Homocystein, Glutamin, Alanin, Asparagin, Prolin, Serin, Glycin, Lysin, Threonin, Methionin, Cystein, Cystathionin, Leucin, Isoleucin, Valin, Tyrosin, Phenylalanin, Histidin, Arginin, Ornithin, Citrullin, Taurin sowie Butyrat und die Lebendmasse bestimmt.

Signifikante Ergebnisse anhand der Auswertung bestehender Korrelationen zwischen den Kopf- und Amnionparametern fanden sich in den Versuchsgruppen FN, TN und FTN, T und N sowie in der Folsäuregruppe.

In letztgenannter Studiengruppe ließ sich lediglich für Threonin ein signifikanter Zusammenhang zum Beginn der UK-Incisivenanlage (UK INC) nachweisen. Neben Threonin war u.a. auch für die Aminosäuren Glutaminsäure, Taurin, Alanin, Cystein, Valin, Arginin, Lysin, Phenylalanin, Citrullin, Ornithin und auch für Homocystein besonders häufig ein signifikanter Zusammenhang zwischen Amnion- und Kopfparametern nachweisbar. Deshalb sollten vor allem o.g. Parameter in weiterführenden Studien Beachtung finden, um die vorliegenden Ergebnisse zu widerlegen oder aber zu bekräftigen.

LKGS, im Sinne von subtotalen Spalten (C.I.L.), waren lediglich in der Versuchsgruppe TN nachzuweisen, vermutlich bedingt durch die in der Literatur für das Thiocyanat beschriebene Verbesserung der Membranpermeabilität und den dadurch verstärkten Einstrom der spaltinduzierenden Substanz Natulan® in die Zellen.

Die Untersuchung der Amnionflüssigkeit ergab vor allem für die Aminosäuren Alanin, Asparagin, Prolin, Serin, Glycin, Methionin, Cystein, Cystathionin, Isoleucin, Histidin, Taurin sowie für das Vitaminoid Thiocyanat und die Lebendmasse aufschlussreiche, zu weiterer Forschung anregende signifikante Ergebnisse.

Die erzielten Ergebnisse dieser Arbeit bezüglich der Induktion von LKGS durch Natulan® (N) sowie die vermutete präventive Wirkung durch Folsäure und/ oder Thiocyanat (Versuchsgruppen FN, TN, FTN, F und T) entsprechen größtenteils den Ergebnissen der Literatur.

Trotzdem gibt es wenige Erklärungsansätze, warum eine solche Verteilung zustande kommt.

Aufgrund mangelnder Gruppengrößen lässt sich jedoch nur eine eingeschränkte Aussage hinsichtlich der klinischen Relevanz treffen.

Bisherige Ergebnisse und Auffassungen sollten in weiterführenden Studien, ggf. unter Analyse einer Versuchsgruppe FT, die auch die expliziten Auswirkungen einer Folsäure-Thiocyanatgruppe untersucht, erhärtet oder widerlegt werden. Erkenntnisse dieser Studien könnten sich im Bereich der Prävention wiederum auswirken und vermutlich sogar die Inzidenz von LKGS weiter reduzieren.

7 Schrifttum

Abou Tara N:
Experimentell erzeugte Missbildungen des Kauschädels bei der Ratte durch Behandlung mit verschiedenen Hydrazinderivaten an einzelnen Tagen der vorgeburtlichen Entwicklung.
Med Diss, Hamburg 1975.

Aly Z:
Studien über die Foetalentwicklung bei weissen Ratten nach Aminosäurezulage zur Ration.
DTW 83; 5: 239-242, 1976.

Anderson RC, Chen KK:
Absorption and toxicity of sodium and potassium thiocyanates.
J Amer Pharmac Assoc 29; 152-161, 1940.

Barber RC, Lammer EJ, Shaw GM, Greer KA, Finnel RH:
The role of folate transport and metabolism in neural tube defect risk.
Mol Gen Metabol 66; 1-9, 1999.

Bartholomäus U, Lugger B:
Das ABC der Vitamine.
FOCUS 31; 66-75, 2003.

Biesalski HK, Grimm P:
Taschenatlas der Ernährung, 6.Aufl..
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1999, 140-141.

Bienengräber V, Fanghänel J, Malek FA, Kundt G:
Application of thiamine in preventing malformations, specifically cleft alveolus and palate, during the intrauterine development of rats.
Cleft Palate Craniofac J 34; 318-324, 1997.

Bienengräber V, Malek FA, Fanghänel J, Abou Tara N:
Hydrazine-induced disturbances in the craniogenesis of experimental animals.
Ann Anat 178; 118, 1996.

Bienengräber V, Malek FA, Fanghänel J, Kundt G:
Disturbances of palatogenesis and their prophylaxis in animal experiments.
Ann Anz 181; 111-115, 1999_a.

Bienengräber V, Malek FA, Möritz KU, Fanghänel J, Gundlach KKH, Weingärtner J:
Is it possible to prevent cleft palate by prenatal administration of folic acid?
Cleft Palate Craniofac J. 38; 393-398, 2001.

Bienengräber V, Malek FA, Weingärtner J, Fanghänel J, Gundlach KKH:
Prevention of procarbazine-induced cleft palates with folic acid - An experimental study. 1999_b. In: Vogel R, Fanghänel J, Koppe TH:
Aspects of teratology.Vol.2, Tectum, Marburg, 1999, 45-49.

BgVV (Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin),
BZgA (Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung): Jod, Folsäure und Schwangerschaft.
Ratschläge für Ärzte. Merkblatt Nr.58: 1-4, 2001.

Blount BC, Mack MM, Wehr CM, MacGregor JT, Hiatt RA, Wang G, Wickramasinghe SN, Everson RB, Arnes BN:
Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome
breakage: implications for cancer and neuronal damage. (1997).

Bor NM, Karpuzoglu T, Hamzadi T, Edgüer E, Kis M:
Role of fetal skin in circulation of amniotic fluid.
Arch Int Physio Biochim 78; 69, 1970.

Boulos BM, Hanna F, Davis LE, Almond CH:
Placental transfer of antipyrine and thiocyanate and their use in determining maternal and fetal body fluids in a maintained pregnancy.
Arch Int Pharmacodyn Ther 201; 42-51, 1973.

Bower C:
Folate and neural tube defects.
Nutr Rev 53; 33-38, 1995.

Boxer GE, Rickards JC:
Studies of metabolism of the carbon of cyanide and thiocyanate.
Arch Biochim Biophys 39; 7-26, 1952.

Branda RF, Eaton JW:
Skin color and nutrient photolysis: an evolutionary hypothesis.
Science 201; 625-626, 1978.

Butterworth CE Jr, Bendich A:
Folic acid and the prevention of birth defects.
Ann Rev Nutr 16; 73-97, 1996.

Chabora AJ, Horowitz SL:
Cleft lip and cleft palate: one genetic system. A new hypothesis.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol 38; 181-186, 1974.

Chaube S, Swinyard CA:
Cellular and biochemical aspects of growth retardition in rat fetuses induced by maternal administration of selected anticancer agents.
Teratology 12; 259-270, 1975.

Chung KC, Kowalski CP, Kim HM, Buchman SR:
Maternal cigarette smoking during pregnancy and the risk of having a child with cleft lip/palate.
Plast Reconstr Surg 105; 485-491, 2000.

Czeizel AE:
Periconceptional folic acid containing multivitamin supplementation.
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 78; 151-161, 1998.

Czeizel, AE, Toth M, Metneki J:
Population - based case control study of folic acid supplementation during pregnancy.
Teratol 53; 345-351, 1996.

Delecour M, Monnier JC, Codaccioni X:
Connaissances actuelles sur la physiologie et la biochimie du liquide amniotique. 1970. In: Herms V, Heinrich D, Kubli J, Metz J:
Über die Verteilung von Aminosäuren in der trächtigen Ratte: Intravenöse, intraamniale und intrafetale Applikation von ^{14}C-L-Tyrosin.
Zeitschrift für Geburtshilfe und Perinatologie 178; 5: 337-341, 1974.

DGE:
Stellungnahme des DGE-Arbeitskreises „Sport und Ernährung“: Taurin in der Sporternährung.
Forschung, Klinik, Praxis 1-4, 2001.

DGE:
Folsäure und Schwangerschaft.
Beratungspraxis 1-3, 2002.

Dörner K, Schulze S:
Referenzwerte für Plasmaaminosäuren imVerlauf der Schwangerschaft.
Zeitschrift für Geburtshilfe und Perinatologie F. Enke Verlag Stuttgart 1993, 141-143.

Dold U, Hermanek K, Höffken K, Sack H:
Praktische Tumortherapie.
G. Thieme Verlag Stuttgart- New York 1993.

Dorr RT, Fritz WL:
Cancer Chemotherapy Handbook.
Elsevier, New York 1980.

Drescher W:
Nierenleistung und Morphologie nach hohen Folsäuredosen.
Med Diss, Berlin 1972.

Dufaux B:
Gesundheitliche Bedeutung der Folsäurezufuhr: Osteoporoserisiko.
Dtsch Ärztebl 4; 102: A-215 / B-178 / C-171, 2005.

Eskes T:
Open or closed.
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 78; 169-177, 1998.

Essien FB, Wannberg SL:
Methionine but not folic acid or vitamin B_{12} alters the frequency of neural tube defects in Axd mutant mice.
J Nutr 123; 27-43, 1993.

Franke H:
Feinstruktur der Plazenta - Elektronenoptische Untersuchungen über die reifende und reife Plazenta der Ratte.
G. Fischer Verlag Jena 1969.

Gabka J:
Ist eine Prävention gegen Lippen-Kiefer-Gaumenspalten möglich?
MMW 118; 949-954, 1976.

Gabka J:
Ätiologie der Lippen-Kiefer-Gaumenspalten.
Öster Zschr Stomatol 77; 253-263, 1980.

Gabka J.:
Genetische Prävention.
MMW 123; 1138, 1981_a.

Gabka J:
Verhütung von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten. Klinische Erfahrungen.
MMW 123; 1139-1141, 1981_b.

Gundlach KKH, Abou Tara N, v Kreybig T:
Tierexperimentelle Ergebnisse zur Entstehung und Prävention von Gesichtsspalten und anderen kraniofazialen Anomalien.
Fortschr Kieferorthop 47; 356-361, 1986.

Hages M:
Prävention von Neuralrohrdefekten durch perikonzeptionelle Folsäuregaben.
Geburtsh Frauenheilk 56; M59-65, 1996.

Hages M, Thorand B, Dierkes J, Pierzik K, Holzgreve W:
Einfluß der mütterlichen Folatversorgung auf den Homocysteinstoffwechsel in der Schwangerschaft. 1995. In: Hages M:
Prävention von Neuralrohrdefekten (NDR) durch perikonzeptionelle Folsäuregaben.
Geburtsh Frauenheilk 56; M59-65, 1996.

Hall JG, Solehdin F:
Folate and its various ramifications.
Adv Pediatr 45; 1-35, 1998.

Heid MK, Bills ND, Hinrichs SH, Clifford AJ:
Folate deficiency alone does not produce neural tube defects in mice.
J Nutr 122; 888-894, 1992.

Heinz J, Dierkes J:
Die Bedeutung von Folsäure für die Gesundheit in verschiedenen Lebensphasen. Teil 1: Folsäure und Neuralrohrdefekte.
Ernährung und Medizin 19 Medizinverlage Stuttgart 2004, 87-94.

Herms V, Heinrich D, Kubli F, Metz J:
Über die Verteilung von Aminosäuren in der trächtigen Ratte: Intravenöse, intraamniale und intrafetale Applikation von ^{14}C-L-Tyrosin.
Zschr Geburtsh Perinatol 178; 337-341, 1974.

Herrmann W, Schorr H, Geisel J, Riegel W:
Homocysteine, cystathionine, methylmalonic acid and B-vitamins in patients with renal diseases.
Clin Chem Lab Med 39; 739-746, 2001.

Höcker P, Stacher A, Weiser M:
Die Aminosäurenkonzentrationen in Plasma und Blutzellen während der Therapie mit Coli-L-Asparaginase.
Blut 25; 9-19, 1972.

Hörsten Av, Pelz L:
Periconceptional prevention of cleft lip/ cleft palate. A metaanalysis.
In: Vogel R, Fanghänel J, Giebel J:
Aspects of teratology.Vol.1, Tectum, Marburg, 38-40, 1996.

Hofmann E:
Biochemie systematisch. 4.Aufl..
Uni-Med Verlag AG Bremen-London-Boston, 2006.

Hol FA, Put NMJvd, Geurds MPA, Heil SG, Trijbels FJM, Hamel BCJ, Mariman ECM, Blom HJ:
Molecular genetic of the gene encoding the trifunctional enzyme MTHFD (methylene-tetrahydrofolate-dehydrogenase, methenyltetrahydrofolate-cyclo-hydrolase, formyl-tetrahydrofolate-synthethase) in patients with neural tube defects.
Clin Genet 52; 119-125, 1998.

Isaacson RJ:
An investigation of some of the factors involved in the closure of the secondary palate. 1959. In: Schubert J, Schmidt R:
Methodische Aspekte der experimentellen Mißbildungsforschung am Beispiel der Gaumenspalten.
Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 9; 407, 1985.

Ivankovic S:
Fehlende teratogene Wirkung von Nitroprussidnatrium (NNP) an Wistarratten und Kaninchen.
Arzneimittel-Forsch 29; 1092-1094, 1979.

Jablonski NG:
A possible link between neural tube defects and ultraviolet light exposure.
Med Hypotheses 52; 581-582, 1999.

Jirousek L:
The metabolism of the thiocyanate ion.
Physiol Bohemosloven 5; 316-329, 1956.

Koch S, Kunze J:
Antiepileptika - Embryofetopathie. 1996.
In: Krost, B: Saisonale Einflüsse bei der Entstehung von Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten.
Med Diss, Halle-Wittenberg 2001.

Koletzko B:
Gesundheitliche Bedeutung der Folsäurezufuhr: Schlusswort.
Dtsch Ärztebl 4; 102: A-216, 2005.

Koletzko B, v Kries R:
Prävention von Neuralrohrdefekten durch Folsäurezufuhr in der Frühschwangerschaft.
Gynäkol - geburtsh Rundsch 35; 2-5, 1995.

Kraus BS, Kitamura H, Ooe T:
Malformations associated with cleft lip and palate in human embryos and fetuses.
Am J Obstet Gynecol 86: 321-327, 1963.

Kreybig Tv, Stoeckenius M:
Fehlbildungen beim Menschen: Lippen-Kiefer-Gaumen-spalten. Entstehung, Ursachen, Präventivmaßnahmen.
Med Mo Pharm. 8, 243-248, 1978.

Krost B:
Saisonale Einflüsse bei der Entstehung von Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten.
Med Diss, Halle-Wittenberg 2001.

Lee IP, Dixon RL:
Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of procarbazine.
Mutant Res 55: 1-14, 1978.

Liefländer S:
Zum Einfluss von Folsäure und Thiocyanat auf die Knochenreifung der LEW.1A-Ratte unter Procarbazinapplikation in zytostatischer Dosierung.
Med Diss, Greifswald 2006.

Löffler G, Petrides PE:
Biochemie und Pathobiochemie. 6.Aufl..
Springer 1998.

Martens A:
Zum Einfluss von Folsäure und Thiocyanat auf die Entwicklung der Kiefer-Gesichtsregion der LEW.1A-Ratte unter besonderer Berücksichtigung der Prävention von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten.
Med Diss, Greifswald 2003.

Michal G:
Biochemical Pathways.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg Berlin 1999.

Mozzuchin AS, Racynskj FJu:
Chimiceskaja profilaktika radiacionnych porazennij. 1964. In: Schubert J: Serotonin als Strahlenschutzstoff bei experimentellen Gaumenspalten durch Röntgenbestrahlung.
Radiobiologia, radiotherapia 14; 577-586, 1973.

Mudd SH, Skovby F, Levy HL, Pettigrew KD, Wilcken B, Pyeritz RE:
The natural history of homocystinuria due to cystathionine β-synthetase deficiency. 1985. In: Hages M: Prävention von Neuralrohrdefekten (NDR) durch perikonzeptionelle Folsäuregaben.
Geburtsh Frauenheilk 56; M59-65, 1996.

Murphy PA:
Periconceptional supplementation with folic acid. Does it prevent neural tube defects?
J Nurse Midwif 37: 25-32, 1992.

Mutschler E:
Arzneimittelwirkungen - Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 8.Aufl..
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2001, 892; 737.

Naurath HJ:
Homocysteinämie und B-Vitamine.
Ernährung & Medizin 19; Medizinverlage Stuttgart 2004, 79-84.

Neumann HJ:
Untersuchungen und Ergebnisse zur Ätiologie und Prävention von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten.
Zeitschr ärztl Fortb 83; 155-158, 1989.

Nguyen TT, Hayakawa T, Tsuge H:
Effect of vitamin B_6 deficiency on the synthesis and accumulation of S-adenosylhomocysteine and S-adenosylmethionine in rat tissues.
J Nutr Sci Vitaminol 47; 188-194, 2001.

Nichols JB:
The pharmacologic and therapeutic properties of the sulfocyanates.
Amer J med Sci 170; 735-738, 1925.

Pande CS, McMenamy RH:
Thiocyanate binding with modified bovine plasma albumins.
Arch Biochim Biophys 126; 260-267, 1970.

Peters S, Strassburg M:
Erzeugung von Gaumenspalten durch Lärm und Hunger.
Dtsch Zahnä Zeitschr 23; 843-847, 1968.

Peters S, Straßburg M:
Stress als teratogener Faktor. Tierexperimentelle Untersuchungen zur Erzeugung von Gaumenspalten.
Arzneim-Forsch 7; 1106-1111, 1969.

Pfeifer G:
Morphology of the formation of clefts as a basis for treatment. 1966.
In: Krost B: Saisonale Einflüsse bei der Entstehung von Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten.
Med Diss, Halle-Wittenberg 2001.

Pfeifer G, v Kreybig T:
Über die Ätiologie der Lippen - Kieferspaltformen und Gaumenspalten beim Menschen und im Tierexperiment.
Experientia 29; 225-228, 1973.

Pritchard JA:
Fetal swallowing and amniotic fluid volume.
Obstet Gynec 28; 606, 1966.

Prott V, Raband T, Raband A, Thürkow B, Kramer A, Weuffen W:
Thiocyanatgehalt in menschlichen Embryonen und fetalen Organen sowie bei Mutter und Kind unter der Geburt und im Wochenbett.
Wiss Z Univ Greifswald, 49-51, 1990.

Pschyrembel:
Klinisches Wörterbuch. 258.Aufl..
De Gruyter Berlin, 1998.

Remke H:
Gesundheitliche Bedeutung der Folsäurezufuhr: Reale Ursachen erforschen.
Dtsch Ärztebl 102; 4: A-215 / B-178 / C-171, 2005.

Robbiano L, Allavena A, Bagarolo C:
Comparison in human and rat hepatocytes of the DANN-damaging activity of five chemicals probably carcinogenic to humans.
Toxicol in vitro 8: 131-137, 1994.

Rostocker Experten:
Lippen-Kiefer-Gaumenspalten.
2.Rostocker Expertensymposium, Univ Rostock, Sektion Stomatologie, 1985.

Rote Liste 2006:
Arzneimittelverzeichnis für Deutschland (einschließlich EU-Zulassungen und bestimmter Medizinprodukte).
Rote Liste® Service GmbH, Frankfurt/ Main, (86 052), 2006.

Rugh R, Grupp E:
Protection of the embryo against the congenital and lethal effects of x-irradiation.
Atompraxis 1: 6; 143, 1960.

Schorah CJ, Habibzadeh N, Wild J, Smithells RW, Seiler MJ:
Possible abnormalities of folate metabolism associated with neural tube defects.
Ann NY Acad Sci 678; 81-91, 1993.

Schreier K, Porath U:
Proteinumsatz in der Prä- und Postnatalperiode. 1970.
In: Dudenhausen JW, Gutsche HU: Zur intrauterinen Ernährung des mangelversorgten Feten - audioradiographischer Nachweis intraamnial applizierter Aminosäuren - Experimentelle Untersuchungen.
Fortschr Med 32; 1264-1268, 1973.

Schubert J:
Serotonin als Strahlenschutzstoff bei experimentellen Gaumenspalten durch Röntgenbestrahlung.
Radiobiologia, radiotherapia 14; 577-586, 1973.

Schubert J:
Untersuchungen zur medikamentösen Beeinflussung experimenteller Gaumenspalten.
Med Diss, Halle 1980.

Schubert J:
Zur Wertigkeit verschiedener Medikamente in der Mißbildungsprävention.
Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl 74; 43-46, 1986.

Schubert J, Schmidt R:
Methodische Aspekte der experimentellen Mißbildungsforschung am Beispiel der Gaumenspalten.
Dtsch Z Mund Kiefer GesichtsChir 9;405-409, 1985.

Schumacher GH, Christ B:
Embryonale Entwicklung und Fehlbildungen des Menschen: Anatomie und Klinik. 10.Aufl..
Ullstein Mosby Berlin 1993, 117-213.

Schwanitz G, Zschiesche S:
Die Beratung von Patienten mit Lippen-Kiefer-Gaumenspalten und ihren Familienangehörigen.
Fortschr Kieferorthop 50; 118-126, 1989.

Schwartz DE, Bollag W, Obrecht P:
Distribution and excretion studies of procarbazine in animals and man.
Arzneimittelforsch 17; 1389-1393, 1967.

Schwenzer N, Ehrenfeld M:
Spezielle Chirurgie - Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde. Bd.2, 3.Aufl..
G. Thieme Verlag Stuttgart 2002.

Selye H:
Die Lehre vom Adaptationssyndrom.
G. Thieme Verlag Stuttgart 1953.

Sereni F, Luppis B:
Developmental Changes in Liver Enzyme Activities with Special Reference to the Perinatal Period of Life 1968.
In: Dudenhausen JW, Gutsche HU: Zur intrauterinen Ernährung des mangelversorgten Feten - audioradiographischer Nachweis intraamnial applizierter Aminosäuren - Experimentelle Untersuchungen.
Fortschr Med 32; 1264-1268, 1973.

Shepard TH:
Catalog of teratogenic agents. 5th ed.
The Hopkins University Press, Baltimore, London 1986.

Sikka PK, McMartin KE:
Determination of folate transport pathways in cultured rat proximal tubule cells.
Chem Biol Interact 114; 15-31, 1998.

Snodgrass SR:
Vitamin neurotoxicity.
Mol Neurobiol 6; 41-73, 1992.

Stampfer MJ, Willet WC:
Homocysteine and marginal vitamin deficiency. The importance of adequate vitamin intake.
JAMA 270; 2726-2727, 1993.

Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J, 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.
J Kardiol – Öster Zschr Herz-Kreislauferkr, Wirtschaft 5; 2-10, 2003.

Staub B, Gallmann N:
Folsäure.
Pharma-kritik 18; 4, 1996.

Tolarova M, Harris J:
Reduced recurrence of orofacial clefts after periconceptional supplementation with high-dose folic acid and multivitamins.
Teratol 51; 71-78, 1995.

Tomè D, Bos C:
Lysine requirement through the human life cycle.
J Nutr 137; 1642-1645, 2007.

Weingärtner J, Below H, Fanghänel J, Bienengräber V, Kramer A:
Zur Entstehung und Prävention von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten und Neuralrohrdefekten aus ernährungsphysiologischer Sicht - 1.Mitteilung: Funktionen der Vitamine B_6, B_{11} und B_{12} sowie des Vitaminoids Thiocyanat.
Dtsch Lebensmittel-Rundsch 8: 1-4, 2003_a.

Weingärtner J, Below H, Kramer A, Bienengräber V, Fanghänel J: Zur Entstehung und Prävention von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten und Neuralrohrdefekten aus ernährungsphysiologischer Sicht - 3.Mitteilung: Folsäure (Vitamin B_{11}).
Dtsch Lebensmittel-Rundsch 12; 471-474, 2003_b.

Weingärtner J, Bienengräber V, Fanghänel J, Kundt G:
Relative maternofetal levels of folic acid, vitamin B_{12} and homocysteine at the beginning of secondary palatal closure in rats.
Vortr. Bad Homburg, 2-5, 2003_c.

Weingärtner J, Bienengräber V, Kundt G, Fanghänel J:
Blutplasmawerte bei wachsenden LEW1.A-Ratten - 1.Mitteilung - Vitamin B_{11} (Folsäure).
Tierärztl. Umschau 58; 651-652, 2003_d.

Weingärtner J, Liefländer S, Below H, Fanghänel J, Bienengräber V:
The influence of procarbazine and thiocyanate on embryonic bone maturation.
Eur J Anat 8; 25-28, 2004_a.

Weingärtner J, Martens A, Bienengräber V, Fanghänel J, Kundt G:
Do folic acid and thiocyanate have a preventive effect on exogenously induced disturbances of embryonic cranial development?
Clin Oral Invest 8; 161-164, 2004_b.

Weingärtner J, Fanghaenel J, Bienengraeber V, Gundlach KK:
Initial findings on teratological and developmental relationships and differences between neural tube defects and facial clefting. First experimental results.
J Craniomaxillofac Surg 33; 297-300, 2005.

Westermann U, Merker HJ:
Prävention von Gaumenspalten im Tierexperiment. Übertragbarkeit auf klinische Belange.
MMW 123; 1142-1144, 1981.

Weuffen W, Bergmann H, Blohm H, Böhland H, Hiepe Th, Schönfeld P:
Thiocyanat - ein biologisch aktives Ion von veterinärmedizinischer und medizinischer Relevanz.
Tierärztl Wschr 116; 144-156, 2003.

Weuffen W, Decker H:
Thiocyanat - ein bioaktives Ion. 1.Aufl..
I.S.M.H.Verlag 2004.

Wickham C, O'Broin S, Kevany J:
Seasonal variation in folate nutritional status.
Ir J Med Science 152; 295-299, 1983.

www.klinikum.uni-heidelberg.de/Allgemeine-Informationen-ueber-Lippen-Kiefer-Gaumenspalten.1751.0.html vom 16.05.2006.

Anhang

Anhang A – Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Zusammenstellung der Entstehungsmöglichkeiten von LKGS 9

Abb. 2: Stoffwechsel von Homocystein 18

Abb. 3: Homocysteinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 51

Abb. 4: Vitamin B_{12}-Konzentration in der Amnionflüssigkeit 52

Abb. 5: Folsäurekonzentration in der Amnionflüssigkeit 53

Abb. 6: Thiocyanatkonzentration in der Amnionflüssigkeit 54

Abb. 7: Glutaminsäurekonzentration in der Amnionflüssigkeit 55

Abb. 8: Glutaminkonzentration in der Amnionflüssigkeit 56

Abb. 9: Alaninkonzentration in der Amnionflüssigkeit 57

Abb. 10: Asparaginkonzentration in der Amnionflüssigkeit 58

Abb. 11: Prolinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 59

Abb. 12: Serinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 60

Abb. 13: Glycinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 61

Abb. 14: Lysinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 62

Abb. 15: Threoninkonzentration in der Amnionflüssigkeit 63

Abb. 16: Methioninkonzentration in der Amnionflüssigkeit 64

Abb. 17: Cysteinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 65

Abb. 18: Cystathioninkonzentration in der Amnionflüssigkeit 66

Abb. 19: Leucinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 67

Abb. 20: : Isoleucinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 68

Abb. 21: Valinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 69

Abb. 22: Tyrosinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 70

Abb. 23: Phenylalaninkonzentration in der Amnionflüssigkeit 71

Abb. 24: Histidinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 72

Abb. 25: Argininkonzentration in der Amnionflüssigkeit 73

Abb. 26: Ornithinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 74

Abb. 27: Citrullinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 75

Abb. 28: Butyratkonzentration in der Amnionflüssigkeit 76

Abb. 29: Taurinkonzentration in der Amnionflüssigkeit 77

Abb. 30: Lebendmasse 78

Anhang B – Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AS	Aminosäure
Auge	Beginn der Augenanlagen
BgVV	Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
BZgA	Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
c.a.	circa
C.I.A.	Anfang des Canalis incisivus
C.I.E.	Ende des Canalis incisivus
C.I.L.	Länge des Canalis incisivus
C.I.M.	Mitte des Canalis incisivus
C. inc.	Canalis incisivus
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
Dopa	Dihydroxyphenylalanin
evtl.	eventuell
FS	Folsäure
G	isolierte Gaumenspalten
GABA	Gammaaminobuttersäure
ggf.	gegebenenfalls
GLDH	Glutamatdehydrogenase
Inc	Incisivi
LK(G)	Lippen-Kiefer- und /oder Lippen-Kiefer-Gaumenspalten
LKGS	Lippen-Kiefer-Gaumen-Segelspalten
LKS	Lippen-Kieferspalten
MW	Mittelwerte
NRD	Neuralrohrdefekt
o.g.	oben genannt
OK	Oberkiefer
OK Mol	Länge des Oberkiefers
p	Irrtumswahrscheinlichkeit

p.c.	post conceptionem
Pm	Prämolaren
r	Korrelationskoeffizient
S	Standardabweichungen
S.	Seite
sek.	Sekundär
SSL	Schädel-Steiß-Länge
SSW	Schwangerschaftswoche
Spalte	Abstand zwischen Beginn des Canalis Incisivus und der Augenanlage
Tab.	Tabelle
tgl.	täglich
THF	Tetrahydrofolat
u.a.	unter anderem
UK	Unterkiefer
UK INC	Beginn der UK-Incisivenanlage
UK Ml	Mitte des Unterkiefers
UK Mol	Länge des Unterkiefers
Zunge	Abstand zwischen dem Beginn der Augenanlagen und der Zungenspitze

Anhang C – Tabellen

In den Tabellen 1 bis 28 sind die Korrelationskoeffizienten dargestellt, wobei die dick vorgehobenen jene sind, mit $p \leq 0{,}05$, sowie die zusätzlich unterstrichenen mit $p \leq 0{,}01$. Die Tabellen 29 bis 34 zeigen für alle Behandlungsgruppen Korrelationen zwischen Kopf- und Amnionparametern, wobei die dick vorgehobenen jene sind, mit $p \leq 0{,}05$, sowie die zusätzlich unterstrichenen mit $p \leq 0{,}01$. In der Tabelle 35 sind für alle untersuchten Gruppen die Mittelwerte, Standardabweichungen und die signifikanten Unterschiede aufgeführt. Das Zeichen „*“ neben der Gruppenbezeichnung kennzeichnet die Anzahl der Versuchstiere. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen wurden hinter dem jeweiligen Mittelwert mit einem exponentiellen Buchstaben (a-g) mit $p \leq 0{,}05$ dargestellt, sowie zusätzlich unterstrichenen mit $p \leq 0{,}01$.

Korrelationskoeffizienten

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,150	**0,016**	0,517	0,617	0,675	0,961
FN	* * *	* * *	**0,017**	*0,083*	0,101	0,189	0,179
TN	* * *	* * *	* * *	**0,034**	0,159	**0,000**	**0,049**
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,991	0,211	0,569
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,386	0,632
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,789
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 1: Homocystein

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,373	*0,096*	0,544	0,167	**0,009**	0,823
FN	* * *	* * *	*0,060*	0,893	*0,092*	**0,026**	0,372
TN	* * *	* * *	* * *	0,130	0,696	0,613	0,337
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,185	*0,068*	0,503
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,296	0,480
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,167
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 2: Vitamin B_{12}

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,633	0,386	0,894	**0,034**	0,135	0,646
FN	* * *	* * *	0,400	0,723	0,177	0,235	0,514
TN	* * *	* * *	* * *	0,480	0,201	0,431	0,558
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,128	0,224	0,681
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,786	**0,035**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,185
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 3: Folsäure

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,234	**0,001**	**0,000**	**0,003**	**0,003**	*0,063*
FN	* * *	* * *	0,219	0,122	0,297	0,333	0,836
TN	* * *	* * *	* * *	0,413	0,754	0,557	0,121
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,334	0,211	**0,050**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,847	0,228
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,260
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 4: Thiocyanat

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	*0,064*	0,279	0,610	0,258	*0,077*	**0,046**
FN	* * *	* * *	*0,082*	*0,072*	0,134	*0,098*	0,106
TN	* * *	* * *	* * *	0,598	0,472	0,489	0,335
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,348	0,233	0,150
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,681	0,786
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,770
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 5: Glutaminsäure

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,950	0,774	**0,053**	0,252	0,783	0,247
FN	* * *	* * *	0,775	*0,093*	0,387	0,794	0,443
TN	* * *	* * *	* * *	0,102	0,491	0,934	0,186
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,174	**0,059**	**0,008**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,259	**0,008**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	*0,084*
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 6: Glutamin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,644	0,995	**0,028**	0,189	0,279	0,176
FN	* * *	* * *	0,666	**0,013**	*0,083*	0,124	0,443
TN	* * *	* * *	* * *	**0,034**	0,222	0,315	0,216
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,144	*0,089*	**0,002**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,705	**0,001**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,001**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 7: Alanin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,733	0,415	**0,022**	**0,057**	0,532	0,974
FN	* * *	* * *	0,368	**0,045**	*0,095*	0,456	0,742
TN	* * *	* * *	* * *	0,106	0,260	0,712	0,374
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,569	**0,037**	**0,017**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,100	**0,044**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,470
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 8: Asparagin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,148	0,602	0,141	*0,089*	0,410	0,122
FN	* * *	* * *	0,302	**0,023**	**0,023**	**0,056**	0,683
TN	* * *	* * *	* * *	*0,077*	**0,053**	0,206	0,373
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,772	0,297	**0,009**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,168	**0,002**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,013**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 9: Prolin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,525	0,796	**0,053**	0,122	0,408	0,501
FN	* * *	* * *	0,416	**0,041**	*0,084*	0,227	0,790
TN	* * *	* * *	* * *	*0,089*	0,201	0,630	0,344
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,571	0,111	**0,013**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,263	**0,020**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,030**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 10: Serin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,385	0,399	**0,026**	0,522	0,432	0,924
FN	* * *	* * *	0,139	**0,021**	0,175	0,150	0,361
TN	* * *	* * *	* * *	**0,057**	0,696	0,833	0,166
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,015**	**0,020**	**0,002**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,802	0,199
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,108
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 11: Glycin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,446	0,538	0,189	0,502	0,650	*0,074*
FN	* * *	* * *	0,911	*0,064*	0,144	0,193	0,408
TN	* * *	* * *	* * *	*0,085*	0,204	0,269	0,364
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,340	0,246	**0,011**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,732	**0,002**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,002**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 12: Lysin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,538	0,997	*0,081*	0,122	0,704	0,656
FN	* * *	* * *	0,545	*0,066*	*0,091*	0,367	0,715
TN	* * *	* * *	* * *	*0,093*	0,138	0,725	0,672
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,806	*0,096*	**0,025**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,149	**0,037**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,299
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 13: Threonin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,149	0,875	**0,026**	**0,022**	**0,040**	0,188
FN	* * *	* * *	0,153	0,349	0,898	0,900	**0,021**
TN	* * *	* * *	* * *	**0,029**	**0,048**	*0,077*	0,341
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,296	0,208	**0,004**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,606	**0,000**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,001**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 14: Methionin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,127	*0,069*	0,440	0,324	0,183	**0,006**
FN	* * *	* * *	0,823	*0,070*	**0,045**	0,393	0,782
TN	* * *	* * *	* * *	**0,053**	**0,018**	0,384	0,490
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,982	0,123	**0,016**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,042**	**0,002**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	*0,069*
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 15: Cystein

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,542	0,351	*0,087*	0,396	0,950	0,182
FN	* * *	* * *	0,113	**0,022**	0,122	0,495	0,447
TN	* * *	* * *	* * *	0,376	0,863	0,214	**0,019**
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,248	**0,026**	**0,002**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,228	**0,017**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,113
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 16: Cystathionin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,193	0,512	0,161	0,385	0,891	0,163
FN	* * *	* * *	0,432	**0,028**	**0,058**	0,138	0,637
TN	* * *	* * *	* * *	*0,062*	0,128	0,375	0,576
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,371	0,143	**0,014**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,322	**0,005**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,043**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 17: Leucin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,183	0,412	0,212	0,181	0,772	*0,095*
FN	* * *	* * *	0,487	**0,040**	**0,040**	0,120	0,694
TN	* * *	* * *	* * *	*0,070*	**0,050**	0,244	0,587
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,748	0,238	**0,013**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,153	**0,000**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,012**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 18: Isoleucin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,122	0,313	0,259	0,474	0,838	**0,051**
FN	* * *	* * *	0,532	**0,025**	**0,037**	0,124	0,780
TN	* * *	* * *	* * *	*0,062*	*0,092*	0,331	0,581
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,495	0,158	**0,011**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,237	**0,001**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,017**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 19: Valin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,657	0,549	**0,021**	0,210	0,385	0,868
FN	* * *	* * *	0,927	*0,068*	0,503	0,780	0,488
TN	* * *	* * *	* * *	**0,044**	0,474	0,824	0,325
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	*0,082*	**0,034**	**0,004**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,482	**0,033**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,108
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 20: Tyrosin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,792	0,752	0,112	0,381	0,682	0,113
FN	* * *	* * *	1,000	0,126	0,387	0,576	0,423
TN	* * *	* * *	* * *	*0,086*	0,279	0,482	0,315
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,245	0,142	**0,012**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,511	**0,003**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,009**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 21: Phenylalanin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,410	0,629	0,114	*0,097*	0,414	*0,080*
FN	* * *	* * *	0,656	**0,048**	**0,052**	0,151	0,695
TN	* * *	* * *	* * *	**0,056**	**0,034**	0,180	0,233
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,575	0,248	**0,007**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,245	**0,000**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,002**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 22: Histidin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,552	0,957	*0,061*	0,379	0,889	0,949
FN	* * *	* * *	0,558	0,206	0,992	0,585	0,480
TN	* * *	* * *	* * *	*0,072*	0,438	0,861	0,992
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,129	**0,059**	**0,045**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,345	0,198
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,790
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 23: Arginin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,128	0,159	0,644	0,460	0,268	**0,024**
FN	* * *	* * *	0,206	0,106	0,177	0,201	0,586
TN	* * *	* * *	* * *	0,164	0,673	0,921	*0,098*
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,333	0,217	**0,021**
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,769	*0,072*
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,100
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 24: Ornithin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,394	0,558	0,334	0,165	0,558	0,681
FN	* * *	* * *	0,583	0,148	0,950	0,547	0,491
TN	* * *	* * *	* * *	*0,067*	0,302	0,934	0,773
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,007**	**0,045**	*0,076*
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,180	0,139
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,790
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 25: Citrullin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	0,752	0,231	0,131	0,411	0,373	0,724
FN	* * *	* * *	0,474	0,288	0,299	0,653	0,600
TN	* * *	* * *	* * *	0,577	*0,072*	0,715	0,350
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,042**	0,398	0,255
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,115	0,869
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,427
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 26: Butyrat

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	**0,022**	0,547	0,666	0,512	0,853	0,775
FN	* * *	* * *	**0,013**	**0,014**	**0,035**	**0,018**	**0,017**
TN	* * *	* * *	* * *	0,926	*0,070*	0,484	0,834
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	0,220	0,714	0,912
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,215	0,343
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,857
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 27: Taurin

Gruppe/Gruppe	**Kontroll**	**FN**	**TN**	**FTN**	**F**	**T**	**N**
Kontroll	* * *	**0,000**	**0,000**	**0,000**	0,517	0,228	**0,000**
FN	* * *	* * *	0,972	0,756	**0,000**	**0,000**	0,463
TN	* * *	* * *	* * *	0,767	**0,000**	**0,000**	0,462
FTN	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,000**	**0,000**	0,796
F	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	0,215	**0,000**
T	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**0,000**
N	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 28: Lebendmasse

Korrelationen Kopf- und Amnionparameter

Vitamin-AS/ Kopfparameter	**C.I.M.**	**C.I.A.**	**C.I.E.**	**Auge**	**OK Mol**	**UK Mol**	**UK MI**
Homocystein	* * *	**-0,778**	* * *	**-0,733**	**-0,770**	**-0,723**	**-0,711**
Glutaminsäure	**-0,829**	* * *	**-0,829**	* * *	* * *	* * *	* * *
Taurin	**-0,829**	* * *	**-0,829**	* * *	* * *	* * *	* * *

Tabelle 29: FN-Gruppe

Vitamin-AS/ Kopfparameter	UK INC	C.I.A.	C.I.E.	Auge	OK Mol	UK Mol	UK MI	Spalte /C.I.L
Glutaminsäure	**-0,758**	* * *	* * *	**+0,702**	* * *	* * *	**+0,644**	* * *
Alanin	**-0,636**	* * *	* * *	**+0,659**	**+0,729**	* * *	**+0,821**	* * *
Asparagin	**-0,636**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,742**	* * *
Prolin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,669**	* * *	**+0,736**	* * *
Serin	**-0,648**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,736**	* * *
Glycin	**-0,636**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,742**	* * *
Lysin	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,650**	* * *
Threonin	**-0,673**	* * *	* * *	* * *	**+0,632**	* * *	**+0,760**	* * *
Cystein	* * *	* * *	* * *	**+0,635**	**+0,673**	* * *	**+0,731**	**-0,975**
Leucin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,657**	* * *	**+0,760**	* * *
Isoleucin	* * *	* * *	* * *	**+0,708**	**+0,754**	* * *	**+0,827**	* * *
Valin	* * *	* * *	**-0,900**	**+0,683**	**+0,742**	* * *	**+0,809**	**-0,975**
Histidin	**-0,644**	* * *	* * *	**+0,679**	**+0,646**	* * *	**+0,787**	* * *
Arginin	* * *	* * *	**-0,900**	**+0,720**	**+0,778**	* * *	**+0,796**	**-0,975**
Ornithin	* * *	* * *	**-0,900**	* * *	* * *	* * *	* * *	**-0,975**
Butyrat	**-0,744**	* * *	* * *	* * *	**+0,728**	* * *	**+0,792**	* * *
Taurin	* * *	**+0,648**	* * *	* * *	**+0,644**	**+0,799**	* * *	* * *

Tabelle 30: TN-Gruppe

Vitamin-AS/ Kopfparameter	C.I.M.	C.I.E.	UK Mol	UK MI	Zunge
Thiocyanat	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,803**
Glutaminsäure	* * *	* * *	**-0,738**	* * *	* * *
Glutamin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,833**
Alanin	**+0,847**	**+0,847**	* * *	* * *	* * *
Asparagin	**+0,847**	**+0,847**	* * *	* * *	* * *
Prolin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,810**
Serin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,786**
Glycin	**+0,755**	**+0,755**	* * *	* * *	**+0,755**
Lysin	**+0,847**	**+0,847**	* * *	* * *	* * *
Threonin	**+0,757**	**+0,757**	* * *	* * *	* * *
Methionin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,786**
Cystein	**+0,847**	**+0,847**	* * *	* * *	* * *
Leucin	**+0,811**	**+0,811**	* * *	* * *	**+0,714**
Isoleucin	**+0,811**	**+0,811**	* * *	* * *	**+0,714**
Valin	**+0,811**	**+0,811**	* * *	* * *	**+0,714**
Tyrosin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,810**
Phenylalanin	**+0,811**	**+0,811**	* * *	* * *	**+0,714**
Histidin	**+0,847**	**+0,847**	* * *	* * *	* * *
Arginin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,810**
Ornithin	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,810**

Vitamin-AS/ Kopfparameter	**C.I.M.**	**C.I.E.**	**UK Mol**	**UK MI**	**Zunge**
Butyrat	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Gewicht	* * *	* * *	* * *	**-0,658**	***+0,627***
SSL	* * *	* * *	* * *	* * *	***+0,644***

Tabelle 31: FTN-Gruppe

Vitamin-AS/ Kopfparameter	**UK INC**
Threonin	**-0,647**

Tabelle 32: F-Gruppe

Vitamin-AS/ Kopfparameter	C.I.M.	C.I.A.	C.I.E.	Auge	OK Mol	UK MI	Zunge
Thiocyanat	**+0,620**	**+0,625**	**+0,579**	* * *	* * *	* * *	* * *
Glutaminsäure	**+0,746**	**+0,761**	**+0,712**	**+0,727**	**+0,623**	* * *	* * *
Glutamin	**+0,697**	**+0,730**	**+0,667**	**+0,664**	**+0,641**	* * *	* * *
Alanin	**+0,704**	**+0,737**	**+0,670**	**+0,713**	**+0,606**	* * *	* * *
Prolin	**+0,600**	**+0,641**	* * *	**+0,627**	* * *	* * *	* * *
Serin	**+0,634**	**+0,670**	**+0,600**	**+0,615**	* * *	* * *	* * *
Lysin	**+0,690**	**+0,726**	**+0,656**	**+0,713**	**+0,613**	* * *	* * *
Threonin	**+0,683**	**+0,709**	**+0,649**	**+0,650**	**+0,581**	* * *	* * *
Leucin	* * *	**+0,579**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Isoleucin	**+0,655**	**+0,684**	**+0,618**	**+0,629**	* * *	* * *	* * *
Valin	**+0,634**	**+0,670**	**+0,600**	**+0,615**	* * *	* * *	* * *
Tyrosin	**+0,705**	**+0,728**	**+0,659**	**+0,669**	**+0,635**	**+0,646**	* * *
Phenylalanin	**+0,754**	**+0,775**	**+0,712**	**+0,692**	**+0,644**	**+0,616**	* * *
Ornithin	**+0,768**	**+0,775**	**+0,737**	**+0,727**	**+0,658**	**+0,623**	* * *
Citrullin	**+0,583**	* * *	**+0,605**	**+0,649**	* * *	* * *	* * *
Taurin	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,592**

Tabelle 33: T-Gruppe

Vitamin-AS/ Kopfparameter	C.I.M.	C.I.A.	UK INC	Auge	OK Mol	UK Mol	UK MI	Zunge
Homocystein	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,599**
Vitamin B_{12}	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,690**
Folsäure	* * *	**+0,591**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Glutamin	* * *	**+0,683**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Prolin	**+0,829**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Serin	**+0,829**	**+0,584**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Glycin	**+0,829**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Lysin	* * *	**+0,705**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Threonin	* * *	**+0,630**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Methionin	* * *	* * *	* * *	**+0,732**	**+0,648**	**+0,583**	* * *	* * *
Isoleucin	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	**+0,594**	**+0,620**	* * *
Tyrosin	* * *	**+0,751**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Phenylalanin	* * *	**+0,804**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Arginin	* * *	* * *	**-0,608**	* * *	* * *	* * *	* * *	**-0,581**
Ornithin	* * *	**+0,767**	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *	* * *
Citrullin	* * *	* * *	* * *	**+0,809**	**+0,604**	**+0,620**	**+0,789**	**-0,667**

Tabelle 34: N-Gruppe

Parameter in	**[a] K** *12			**[b] FN** *12			**[c] TN** *12			**[d] FTN** *12			**[e] F** *12			**[f] T** *12			**[g] N** *13		
µmol/l/Gruppe	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**
Homocystein	2,19	c	0,69	3,12	c	1,65	1,47	dfg	0,35	1,99		0,65	1,99		1,14	2,31		0,51	2,21		1,13
Vitamin B12	2211,22	f	369,00	2475,11	f	769,39	1858,10		498,63	2420,00		982,20	1942,00		489,92	1766,25		282,82	2148,25		860,84
Folsäure	26,03	e	5,80	29,18		18,25	23,54		6,41	26,60		11,68	19,90	g	6,42	20,81		9,45	24,96		4,24
Thiocyanat	2,27	cdef	0,78	1,71		1,20	1,19		0,37	1,03	g	0,47	1,26		0,57	1,30		0,49	1,62		0,81
Glutaminsäure	60,10	g	22,43	249,75		244,35	73,90		31,83	66,38		27,45	98,18		103,16	84,33		37,54	89,00		39,78
Glutamin	1381,36	d	276,08	1391,25		366,71	1343,70		312,60	1074,38	fg	355,09	1264,36	g	174,93	1353,33		193,15	1506,33		220,25
Alanin	1228,45	d	294,61	1288,63	d	260,33	1229,30	d	311,27	907,00	g	278,15	1084,64	g	186,54	1113,75	g	176,25	1370,75		160,56
Asparagin	264,91	de	63,74	278,63	d	96,71	240,90		67,68	185,13	fg	68,81	204,55	g	75,86	250,25		43,64	265,75		58,44
Prolin	633,64		138,94	767,50	def	212,83	669,10	e	164,47	532,13	g	142,07	548,36	g	69,34	593,08	g	80,75	731,08		151,45
Serin	579,36	d	154,25	636,88	d	211,11	561,60		156,16	421,75	g	156,16	467,00	g	171,37	534,17	g	89,58	615,33		81,33
Glycin	443,91	d	159,71	522,75	d	207,30	394,10	d	99,74	301,88	efg	90,39	409,27		71,39	402,00		65,14	449,00		72,16
Lysin	1141,82		210,53	1214,75		193,82	1203,30		236,16	999,00	g	231,68	1090,27	g	133,23	1108,50	g	117,06	1281,50		126,59
Threonin	614,73		167,54	676,50		235,91	614,40		173,90	473,00	g	160,05	492,91	g	185,72	591,42		114,41	642,50		120,72

Tabelle 35: Mittelwerte mit Standardabweichungen und Signifikanten Unterschieden

***** Anzahl der Versuchstiere pro Gruppe

Parameter in	**[a] K** *12			**[b] FN** *12			**[c] TN** *12			**[d] FTN** *12			**[e] F** *12			**[f] T** *12			**[g] N** *13		
µmol/l/Gruppe	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**	**MW**		**S**
Cystathionin	2,89		1,81	3,35	d	1,32	2,22	g	1,42	1,68	fg	1,01	2,32	g	1,23	2,93		1,13	3,89		1,65
Leucin	547,27		159,11	668,25	de	208,31	594,90		166,80	434,38	g	168,26	496,73	g	100,39	539,58	g	102,30	629,50		102,94
Isoleucin	240,09		72,10	302,63	de	108,62	269,10	e	84,80	194,38	g	77,55	204,45	g	44,48	232,58	g	46,46	286,00		49,30
Valin	612,00	g	150,07	740,00	de	178,56	686,30		175,44	527,38	g	158,77	572,27	g	99,68	623,17	g	100,66	720,58		3,21
Tyrosin	295,45	d	92,78	277,13		83,14	273,70	d	70,00	201,88	fg	67,99	254,64	g	45,12	267,92		43,75	300,83		52,10
Phenylalanin	352,91		100,15	368,38		137,97	368,40		118,92	259,38	g	129,41	320,82	g	63,00	338,25	g	61,95	412,25		64,92
Histidin	255,82		84,18	294,38	de	106,11	273,60	de	81,83	183,75	g	97,36	205,18	g	43,99	230,50	g	57,07	310,67		51,13
Arginin	383,82		88,23	355,50		107,36	386,20		108,82	279,50	fg	121,26	355,91		51,99	379,25		63,69	385,83		55,91
Ornithin	110,64	g	24,37	190,13		129,38	125,90		23,30	103,50	g	37,05	120,36		35,11	124,67		34,20	162,17		66,13
Citrullin	20,00		10,52	25,75		16,02	22,30		6,88	16,13	ef	6,40	25,36		6,27	22,08		4,87	21,50		5,71
Butyrat	20,91		10,31	19,38		10,24	16,30		6,41	14,38	e	7,61	25,27		13,76	17,42		7,73	23,83		25,97
Taurin	418,91	b	99,12	617,63	cdefg	188,24	398,70		42,36	401,50		73,57	442,36		60,43	412,67		49,43	406,17		112,03
Lebendmasse	3,54	b,c,d,g	0,98	1,81	e,f	0,19	1,81	e,f	0,16	1,85	e,f	0,35	3,34	g	0,35	3,16	g	0,33	1,88		0,27

Tabelle 35: Mittelwerte mit Standardabweichungen und Signifikanten Unterschieden

***** Anzahl der Versuchstiere pro Gruppe

Anhang D – Erklärung

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Treis-Karden,

(Anja Brinkmann)

Anhang E – Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Brinkmann, Anja
Eltern:	Angelika und Klaus Brinkmann (beide Dipl.-Päd.)
Geschwister:	Peter Brinkmann (Studienrat)
Wohnort:	56253 Treis-Karden (Mosel), Am Markt 1
geboren:	02.10.1978 in Demmin
Familienstand:	ledig

Schulischer und beruflicher Werdegang

1985-1987	Pestalozzi-Oberschule in Demmin
1987-1989	Schule mit erweitertem Sprachunterricht in Demmin
1989-1991	Antonin Zapotocky-Oberschule in Neubrandenburg
1991-1993	Gesamtschule Mitte in Neubrandenburg
1993-1997	Musisches Gymnasium in Neubrandenburg
06/1997	Abitur
01/1998	Beginn der Sanitätsoffizieranwärterlaufbahn bei der Bundeswehr
	Beurlaubung zum Studium der Zahnmedizin zum WS 1998/99
10/1998	Aufnahme des Zahnmedizinstudiums an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
10/1999	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
10/2001	Zahnärztliche Prüfung
10/2004	Staatsexamen

Seit 11/2004	Tätigkeit als Zahnärztin in der Zahnarztgruppe Flensburg
Seit 08/2008	Leiterin der Zahnarztgruppe der Sanitätsstaffel Mechernich
Seit 07/2009	Tätigkeit als Zahnärztin in der Zahnarztgruppe Kerpen
Ab 09/2011	Tätigkeit als Zahnärztin in den Zahnarztgruppen Lahnstein und Koblenz; regelmäßige Zusammenarbeit mit dem Bundeswehrzentralkrankenhaus Koblenz, FU VIIa unter der Leitung von OTArzt Dr. Eger sowie Fortbildung auf dem Fachgebiet der Parodontologie (angestrebte Spezialisierung)

Treis-Karden, 16.11.2011

Anhang F – Danksagung

Ich danke sehr herzlich Herrn Prof. Dr. Dr. Peter Proff für die Vergabe des Themas und die Förderung dieser Arbeit.

Den Herren Prof. Dr. J. Fanghänel und Dr. J. Weingärtner (Institut für Anatomie und Zellbiologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald) danke ich für die vorbildliche Betreuung und die vielen Ratschläge für die Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. A. Kramer (Institut für Hygiene und Umweltmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald) danke ich für die Überlassung des Thyiocyanats und die entsprechende Beratung darüber.

Dank auch für die Bereitstellung der biochemischen Parameter an die Herren Prof. Dr. M. Wehner (Institut für Humangenetik der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald) und Prof. Dr. Dr. V. Bienengräber (Universität Rostock) sowie deren Mitarbeiter.

Ich danke meiner Familie (v.a. meinen Eltern Angelika und Klaus Brinkmann und meinem Bruder Peter) sowie meinen Freunden für ihre Unterstützung und auch denen, die die Fertigstellung dieser Arbeit nicht mehr erleben durften und dennoch immer an mich geglaubt haben.

Zuletzt, aber nicht weniger herzlich, ein besonderer Dank an meinen Lebensgefährten, Herrn Christoph Zilles, u.a. für die Unterstützung mit Microsoft Word und das Korrekturlesen sowie die aufgebrachte Geduld.