



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

## Orale Vitamin K Prophylaxe von Neugeborenen

Gabriele Pfeffer

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Ernährungswissenschaften

Betreuer:

Univ. Prof. Dr. Hans Goldenberg

## **Danksagung**

Mein Dank gilt vor allem Herrn Prof. Dr. Hans Goldenberg für die hervorragende, bemühte und humorvolle Betreuung zu allen Zeitpunkten der Arbeit.

Ganz besonders danke ich meinem Mann Martin, der Liebe meines Lebens, die mich einen Großteil meines Studiums begleitet hat und immer an mich und meine Fähigkeiten geglaubt hat; sowie unserem Sohn Peter, der mich mehr Konsequenz und Durchhaltevermögen gelehrt hat und dazu veranlasst hat mich mit diesem interessanten Thema auseinanderzusetzen.

Ein großer Dank geht auch an meine Schwiegermutter Christine, die sich während meiner Recherche- und Schreibaarbeit so liebevoll und zuverlässig um unseren Sohn gekümmert hat und mir damit die Fertigstellung meines Studiums ermöglicht hat.

Meinen Eltern danke ich herzlich für ihre Unterstützung in jeglicher Hinsicht.

Vielen Dank auch an Wolfgang Reininger, meinem Studienkollegen, für seine Kritik, Unterstützung und seine unkonventionellen und tiefgründigen wissenschaftlichen Anregungen.

Besonders bedanke ich mich bei Helmut David, Gust Thalhamer, Karin Müller, Hanne Buder und Martina Amon und vielen meiner weiteren FreundInnen für ihre emotionale Unterstützung und ihre wertvolle Begleitung in entscheidenden Abschnitten meines Lebens sodass mir meine Lebensqualität und diese Arbeit überhaupt erst möglich wurde.

## **Plagiatserklärung**

„Hiermit erkläre ich, die vorgelegte Arbeit selbständig verfasst und ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben. Alle wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommenen Textpassagen und Gedankengänge sind durch genaue Angabe der Quelle in Form von Anmerkungen bzw. In-Text-Zitationen ausgewiesen. Dies gilt auch für Quellen aus dem Internet, bei denen zusätzlich URL und Zugriffsdatum angeführt sind. Mir ist bekannt, dass jeder Fall von Plagiat zur Nicht-Bewertung der Diplomarbeit führt und der Studienprogrammleitung gemeldet werden muss. Ferner versichere ich, diese Arbeit nicht bereits andernorts zur Beurteilung vorgelegt zu haben.“

Mank, am 12. Juli 2011

## Einleitung

Bis zur Mitte des letzten Jahrhunderts galten Neugeborenenblutungen, also der frühe und klassische Morbus Hämorrhagicus Neonatorum, heute als frühe und klassische Vitamin K Mangelblutung bezeichnet, als wichtiges pädiatrisches Problem, je nach den damaligen Definitionen bzw. Diagnosen mit sehr weit streuenden Inzidenzwerten. Die American Academy of Pediatrics bildete mit ihrem Konsensuspapier 1961 die Empfehlungsgrundlage der generellen Vitamin K Prophylaxe für alle gesunden Neugeborenen in den westlichen Industrieländern mit einer heute wie damals angeführten Inzidenz von 0,25 bis 1,7%, basierend auf z.T. sehr alten Studien<sup>20,21</sup>. Heute tritt der frühe MHN ohne Vitamin K Prophylaxe VKP in westlichen Industrieländern praktisch nicht mehr auf, sowie der klassische MHN ohne VKP mit einer überraschend niedrigen Inzidenz von 0,60/100 000 Lebendgeborene (der MHN insgesamt mit 1,62/100 000)<sup>83</sup>. Der frühe und der klassische MHN stellen in den allermeisten Fällen keine Gefährdung für das gesunde Neugeborene dar und schwere Blutungen werden bei frühzeitiger Gabe von VK bei den ersten Symptomen verhindert.

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war der Frage nachzugehen, inwieweit der Rückgang des frühen, klassischen und späten MHN auf die generelle VKP zurückzuführen ist. Dabei hat sich nach kritischer Analyse der vorliegenden Studien gezeigt, dass vor allem die intramuskuläre i.m. VKP in der Lage ist, das Auftreten des späten MHN effektiv zu verringern (in Österreich wird die VKP oral verabreicht)<sup>84, 69</sup>. Allerdings wurde bereits vor 20 Jahren u.a. von GOLDING et al. aufgrund epidemiologischer Untersuchungen darauf hingewiesen, dass die i.m. VKP das Risiko an Krebs im Kindesalter zu erkranken um das Zweifache erhöht<sup>48</sup>, auch PASSMORE et al. und PARKER et al. konnten dieses Risiko ebenfalls in epidemiologischen Studien nicht ausschließen<sup>66</sup>, insgesamt aber führten die epidemiologischen Studien zu widersprüchlichen Ergebnissen.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war daher ein Umreißen von potentiellen biologischen Mechanismen nach derzeitigem Forschungsstand, das eine evidenzbasiertere Abschätzung eines kanzerogenen bzw. mutagenen Risikos der (i.m.) VKP möglich machen sollte.

# Inhalt

|                                   |           |
|-----------------------------------|-----------|
| <b>Abbildungsverzeichnis.....</b> | <b>VI</b> |
|-----------------------------------|-----------|

|                                 |           |
|---------------------------------|-----------|
| <b>Tabellenverzeichnis.....</b> | <b>VI</b> |
|---------------------------------|-----------|

|           |                                                                                                       |           |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.</b> | <b>Chemische Grundlagen des Vitamin K VK.....</b>                                                     | <b>1</b>  |
| 1.1       | Geschichte.....                                                                                       | 1         |
| 1.2       | Struktur, Nomenklatur und Reaktionsverhalten.....                                                     | 1         |
| 1.2.1     | Grundstruktur und Menadion.....                                                                       | 1         |
| 1.2.2     | Vitamin K <sub>1</sub> .....                                                                          | 4         |
| 1.2.3     | Vitamin K <sub>2</sub> .....                                                                          | 5         |
| 1.3       | Oxidans, Antioxidans.....                                                                             | 6         |
| 1.4       | Biologische Wirksamkeit.....                                                                          | 8         |
| 1.5       | Stabilität.....                                                                                       | 10        |
| 1.6       | Allgemeine Analytik.....                                                                              | 11        |
| 1.7       | Die wichtigsten Handelsformen und derzeitige Verwendung.....                                          | 11        |
| 1.7.1     | Humanmedizin und –ernährung.....                                                                      | 11        |
| 1.7.2     | Tiernahrung und –arzneistoffe.....                                                                    | 12        |
| <br>      |                                                                                                       |           |
| <b>2.</b> | <b>Der Morbus haemorrhagicus neonatorum MHN und die Einführung der Vitamin K Prophylaxe VKP.....</b>  | <b>14</b> |
| 2.1       | Definition des MHN.....                                                                               | 14        |
| 2.2       | Häufigkeit des MHN vor der generellen VKP.....                                                        | 15        |
| 2.3       | Das U.S.amerikanische Konsensuspapier und die wissenschaftlichen Grundlagen für seinen Beschluss..... | 19        |
| 2.4       | Häufigkeiten des klassischen und späten MHN heute.....                                                | 25        |
| 2.5       | Generelle Präventionsmaßnahme und Fragestellung.....                                                  | 29        |
| 2.6       | Die VKP in Österreichs Landeskliniken.....                                                            | 31        |

|          |                                                                       |           |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3</b> | <b>Physiologie und Biochemie des VK im Neugeborenen.....</b>          | <b>33</b> |
| 3.1      | Metabolismus.....                                                     | 33        |
| 3.1.1    | Aufnahme, Biosynthese.....                                            | 33        |
| 3.1.2    | Resorption und Transport.....                                         | 36        |
| 3.1.2.1  | Aufnahme in die Leber.....                                            | 37        |
| 3.1.2.2  | Aufnahme in die Knochenmatrix.....                                    | 38        |
| 3.1.2.3  | Mechaninontransport und Kinetik.....                                  | 40        |
| 3.1.3    | Speicherung.....                                                      | 41        |
| 3.1.4    | Abbau und Ausscheidung.....                                           | 42        |
| 3.2      | Funktionen.....                                                       | 44        |
| 3.2.1    | Biochemischer Mechanismus der Aktivierung der Gerinnungsfaktoren..... | 46        |
| 3.3      | Vorkommen und Bedarf.....                                             | 52        |
| 3.3.1    | Schätzwerte für eine angemessene Zufuhr.....                          | 52        |
| 3.3.2    | Vitamin K Mangel.....                                                 | 55        |
| 3.3.2.1  | ernährungsbedingt.....                                                | 55        |
| 3.3.2.2  | krankheitsbedingt.....                                                | 55        |
| 3.3.2.3  | medikamenteninduziert.....                                            | 58        |
| 3.3.3    | Beurteilung des VK Mangels .....                                      | 60        |
| 3.3.4    | Hypervitaminose und Toxizität.....                                    | 62        |
| <b>4</b> | <b>Diskussion.....</b>                                                | <b>66</b> |
| 4.1      | VKP und Krebsepidemiologie.....                                       | 66        |
| 4.2      | VK Status von Neugeborenen – evolutionsbiologisch sinnvoll?.....      | 68        |
| 4.2.1    | Blutgerinnung des Neugeborenen.....                                   | 69        |
| 4.2.2    | VK Versorgung des gestillten Säuglings über die MM.....               | 72        |
| 4.2.3    | Plazentagängigkeit und Mutagenität.....                               | 74        |
| <b>5</b> | <b>Zusammenfassung.....</b>                                           | <b>79</b> |
| <b>6</b> | <b>Literatur.....</b>                                                 | <b>80</b> |

## Abbildungsverzeichnis

|                   |                                                                                                                                        |    |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Abb. 1.1</b>   | 2-Methyl-1,4-naphthochinon, Vitamin K <sub>3</sub> (Menadion).....                                                                     | 2  |
| <b>Abb. 1.2</b>   | Chemische Reaktionen von Chinonen zu Semi- und Hydrochinonen.....                                                                      | 3  |
| <b>Abb. 1.3.1</b> | 2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphthochinon, Vitamin K <sub>1</sub> , Phyllochinon.....                                                        | 4  |
| <b>Abb. 1.3.2</b> | Vitamin K <sub>1</sub> , Phyllochinon (Kurzschreibweise).....                                                                          | 4  |
| <b>Abb. 1.4.1</b> | Plastochinon n=6-10 .....                                                                                                              | 5  |
| <b>Abb. 1.4.2</b> | Ubichinon n= 10.....                                                                                                                   | 5  |
| <b>Abb. 1.5</b>   | Vitamin K <sub>2</sub> , Menachinon.....                                                                                               | 5  |
| <b>Abb. 3.1</b>   | Schematische Darstellung von Absorption, Transport und Aufnahme von Nahrungsphyllochinon (VK <sub>1</sub> ) und Menachinon-7 MK-7..... | 39 |
| <b>Abb. 3.2</b>   | ungesättigtes 2-Methyl-3-1,4-Naphthochinon.....                                                                                        | 42 |
| <b>Abb. 3.3</b>   | gesättigtes 2-Methyl-3-1,4-Naphthochinon.....                                                                                          | 43 |
| <b>Abb. 3.4</b>   | Umwandlungsformen des Vitamin K (Vitamin K Zyklus) bei der $\gamma$ -Carboxylierung der Vorstufen der Gerinnungsfaktoren.....          | 47 |
| <b>Abb. 3.5</b>   | Übersicht über die Beurteilungskriterien für die Bestimmung eines VK-Mangels.....                                                      | 60 |

## Tabellenverzeichnis

|                 |                                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tab. 1.1</b> | Die biologische Wirksamkeit BW verschiedener K-Vitamine mit unterschiedlicher Länge der Seitenkette bei der K-Avitaminose des Hühnchens, bezogen auf Vitamin K <sub>1</sub> (20) = 100..... | 9  |
| <b>Tab. 2.1</b> | Häufigkeit, Unterscheidung der einzelnen Blutungsformen und Anzahl der ermittelten Gerinnungsstörungen nach JENNY und GSCHWEND, Zürich, 1958.....                                           | 16 |
| <b>Tab. 2.2</b> | HDN Blutungsformen, Häufigkeit, Unterscheidung und Einordnung in VKDB Formen nach dem Zeitpunkt ihres Auftretens; nach McNINCH und TRIPP, 1991.....                                         | 25 |
| <b>Tab. 3.1</b> | Vitamin K Gehalt in ausgewählten Lebensmitteln [aus SFK, 2000].....                                                                                                                         | 33 |
| <b>Tab. 3.2</b> | Schätzwerte für eine angemessene Zufuhr an Vitamin K [nach DGE, Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 3.Aufl., 2008].....                                                                  | 53 |
| <b>Tab. 4.1</b> | Odds Ratio von Krebs bei Kindern mit VKP.....                                                                                                                                               | 68 |
| <b>Tab. 4.2</b> | Aktivitäten ausgewählter Gerinnungsfaktoren bei reifen Neugeborenen im Vergleich zu Erwachsenen und Anpassungszeitraum [nach Biesalski, 1997].....                                          | 71 |

# **1 Chemische Grundlagen des Vitamin K**

## **1.1 Geschichte**

Die Stoffklasse der Chinone, zu denen auch die Vitamine der K-Reihe zählen, ist schon seit 1838 bekannt. Justus von Liebig gewann damals durch Oxidation der Chinasäure das p-Benzochinon. Danach fand man auch in der belebten Natur viele Chinone, ihre biologische Bedeutung war jedoch noch unbekannt.

Als Vitamin K wird seit 1935 eine Gruppe von Verbindungen bezeichnet, die Einfluss auf die Blutgerinnung haben und eine antihämorrhagische Wirkung entfalten. K steht für „Koagulationsvitamin“, nach DAM, der 1929 bei Versuchen an Küken beobachtete, dass mit Ether extrahiertes (lipidfreies) Futter zu tödlichen Blutungen führte. Spätere Versuche zeigten, dass das Blut der betroffenen Versuchstiere durch Verfüttern der Etherextrakte aus Futtermitteln wieder koagulierbar wurde<sup>44</sup>. Die Isolierung von zwei chemisch ähnlichen Verbindungen mit antihämorrhagischer Wirkung, Vitamin K<sub>1</sub> und K<sub>2</sub> gelang 10 Jahre später DAM, DOISY und Paul KARRER. Das aus einem mit Bakterien infizierten, faulenden Fischmehl gewonnene Vitamin, ähnlich dem Vitamin K<sub>1</sub>, wurde als Menachinon (Methylnaphthochinon), Vitamin K<sub>2</sub> bezeichnet. Die Charakterisierung und Reindarstellung von Phyllochinon folgten von DOISY und KARRER. Im selben Jahr gelingt die Synthese von Vitamin K<sub>1</sub> unabhängig voneinander von den Arbeitsgruppen ALMQUIST und KLOSE, McCORQUODALE, CHENEY und FIESER. Die ersten Synthesen gehen vom Menadion und Phytol, bzw. von Phytylbromid aus. 1974 entdecken STENFLO et al. (Schweden), NELSESTUEN et al. (USA) und MANGUSSON et al. (Dänemark) eine neue Aminosäure,  $\gamma$ -Carboxyglutaminsäure Gla, in Prothrombin, für deren Biosynthese Vitamin K erforderlich ist. Gla-haltige Proteine konnten in einer Serie weiterer Blutgerinnungsfaktoren und in zahlreichen Geweben nachgewiesen werden. Damit begann sich das breite Spektrum der Funktionen der K-Vitamine, über die antihämorrhagische Aktivität hinaus abzuzeichnen.<sup>40, 44,45, 38, 68, 120</sup>

## **1.2 Struktur, Nomenklatur und Reaktionsverhalten**

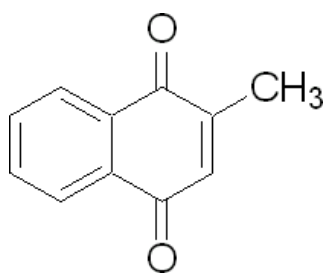
### **1.2.1 Grundstruktur und Menadion**

Als Vitamin K wird eine Gruppe von Naphthochinonderivaten mit Phyllochinon-Wirkung bezeichnet (in der älteren Literatur ist häufig die antihämorrhagische Wirkung allein gemeint). Die natürlich vorkommenden Vitamin K – aktiven



Naphthochinonderivate enthalten am C3 eine isoprenoide Seitenkette und unterscheiden sich durch die Sättigung und Länge ihrer Seitenketten.

Den Grundkörper, 2 – Methyl – 1,4 – naphthochinon (Abb. 2.1), bzw. Menadion, enthalten alle Vitamin K aktiven Substanzen. Menadion kommt in der Natur nicht vor, kann aber synthetisch erzeugt werden und ist auch bekannt unter der Bezeichnung Vitamin K<sub>3</sub>.<sup>11, 40</sup> Chemisch handelt es sich beim Grundkörper um ein vom Naphthalen abgeleitetes p – Chinon.

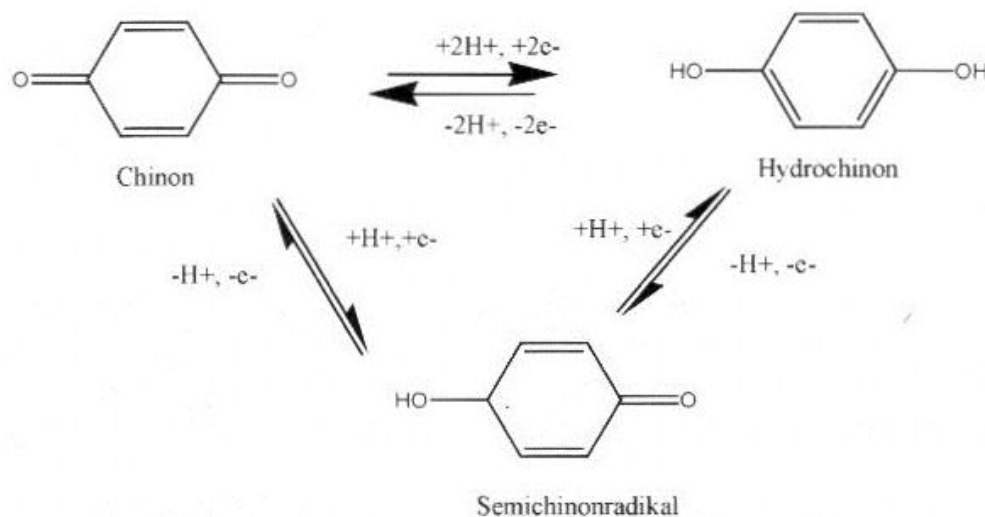


**Abb. 1.1** 2-Methyl-1,4-naphthochinon, Vitamin K<sub>3</sub> (Menadion)

In Pflanzen und Mikroorganismen konnten viele Naphthochinone nachgewiesen werden, mit unterschiedlichen physiologischen Wirkungen, z.T. auch medizinisch verwendet, wie Juglon, Lawson, Plumbagin, Fusarubin und Lapachol, um einige namhafte zu nennen. Vitamin-K-wirksame Naphthochinone sind bis heute nahezu 100 bekannt<sup>40</sup>. Der Grad der biologischen Aktivität der zahlreichen K-Vitamine im Organismus ist sehr unterschiedlich und beruht auf der Wechselwirkung mit den Redoxsystemen des Organismus, was für ihre ursprüngliche Funktion im Stoffwechsel ihrer natürlichen Quellen (Pflanzen und Bakterien) und auch im tierischen Organismus von entscheidender Bedeutung ist. Von Bedeutung sind heute die Vitamine K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub> und Menadion (K<sub>3</sub>).

Chinone und in weiterer Folge Naphthochinone sind in allen Atmungsketten als Komponenten enthalten, z.B. Ubichinon und/oder Menachinon in tierischen Organismen und verschiedenen Mikroorganismen, und Plastochinon in Pflanzen. Sie enthalten mobile  $\pi$ -Elektronen und entstehen, in vitro, vor allem durch Oxidation von ortho- und para-Dihydroxyaromaten (Hydrochinonen) und können bei geeigneten Reaktionsbedingungen wieder zu den entsprechenden Hydrochinonen reduziert werden. Bei diesen Redoxreaktionen sind jeweils 2 Wasserstoff-Ionen und 2 Elektronen notwendig, die entweder abgegeben oder aufgenommen werden. Die Ein-Elektron-Oxidation oder Reduktion, wie sie unter physiologischen Bedingungen in den Atmungsketten des tierischen, mikrobiellen und pflanzlichen Stoffwechsels

(Photosynthese) vorkommt, führt zu kurzlebigen hochreaktiven Zwischenprodukten mit radikalischem Charakter, den Semichinonen. Die Menge an Energie, die durch einen Elektronentransfer übertragen wird, wird durch das Redoxpotential (Reaktivität) eines Chinons bestimmt. Bei der Reoxidation von Semichinonen und/oder Hydrochinonen zu Chinonen durch Sauerstoff können Sauerstoffradikale entstehen, der bekannte cytotoxische Effekt vieler Chinone und die Ursache für die Cytotoxizität und Mutagenität von Menadion im tierischen Organismus<sup>38</sup>. Mittlerweile ist belegt, dass Menadion Hämolyse und Hepatozytenschädigung bei Menschen mit G6DP-Mangel verursacht und Hämolyse und schwere Hyperbilirubinämie und Kernikterus bei Neugeborenen. Es oxidiert Hämoglobin zu Methämoglobin und zerstört Erythrozytenmembrane, speziell bei Neugeborenen, deren Erythrozyten noch viel empfindlicher sind als die von Erwachsenen. In Hepatozyten von Ratten führt es zu einer Änderung der intrazellulären Thiol- und  $\text{Ca}^{2+}$  - Homöostase und folgenden Anstieg des  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegels.<sup>44, 4</sup>

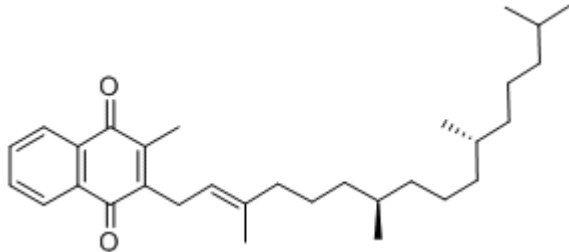


**Abb. 1.2** Chemische Reaktionen von Chinonen zu Semi- und Hydrochinonen<sup>38</sup>

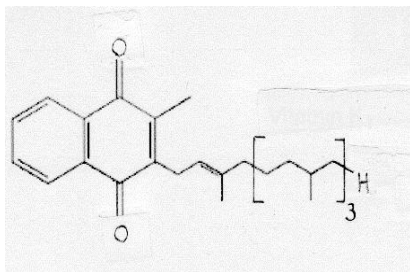
Das Center for Environmental Science in Maryland spricht sich nach einer Untersuchung für die Verwendung von Menadion als „natürliches“ Biozid zur Bekämpfung von nicht-heimischen, u.U. invasiven Organismen im Ballastwasser von (Fracht-)Schiffen aus. Dabei wurde die Toxizität von Plumbagin, Juglon, Menadion und Naphthazarin (5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon) auf Algen, Plankton und u.a. Mikroorganismen untersucht. Plumbagin und Juglon erwiesen sich als am toxischsten mit  $<1\text{mg/l}$ . Vom Kosten-Nutzen Standpunkt für die erforderlichen großen Mengen zu behandelnden Ballastwassers betrachtet, wurde Menadion als Biozid der Wahl empfohlen.<sup>122</sup>

### 1.2.2 Vitamin K<sub>1</sub>

Vitamin K<sub>1</sub> auch als Phyllochinon bezeichnet (internationaler Freiname: Phytomenadion), enthält eine Phytylseitenkette mit 20 C – Atomen, also eine einfach ungesättigte (lipophile) Seitenkette, in trans-Konfiguration, mit 4 Isopreneinheiten (Phytolschwanz).



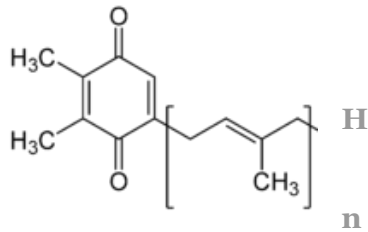
**Abb. 1.3.1** 2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphthochinon, Vitamin K<sub>1</sub>, Phyllochinon



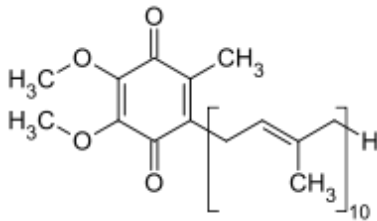
**Abb. 1.3.2** Vitamin K<sub>1</sub>, Phyllochinon (Kurzschreibweise)

Phyllochinon ist struktureller und funktioneller Bestandteil der Photosynthese in Pflanzen, es trägt an seinem hydrophoben Naphthochinon-Ringsystem den gleichen lipophilen Phytolschwanz, der auch an den Porphyrinring des Chlorophylls (a und b) gebunden ist. Im Chlorophyll dient der Phytolschwanz der Verankerung des Moleküls in der Thylakoidmembran der Chloroplasten, im tierischen Organismus dürfte er u.a. für die Resorption des Vitamins von Bedeutung sein, siehe Kapitel 3 <sup>38</sup>.

Da die Photosynthese ein Redoxvorgang ist, lässt sich das Reaktionsverhalten des darin beteiligten Phyllochinons in der Atmungskette gut veranschaulichen. Licht versetzt die beiden Photosysteme in der Thylakoidmembran der Chloroplasten in einen energiereichen Zustand, entstandene Chlorophyllradikale übertragen ihr Elektron über Chlorophyll-a (Reaktionszentrum liegt im Porphyrinring) über mehrere Schritte auf Plastochinon. Plastochinon nimmt zwei Protonen auf und wird dadurch zu einem Hydrochinon reduziert, das als eigentliches Produkt vom Photosystem II freigesetzt wird. Diese Elektronentransportkette ähnelt derjenigen in der tierischen und bakteriellen Zellatmung, mit dem Unterschied, dass die Chinone in den Tieren und Bakterien Ubichinon oder Menachinon sind und im Photosystem II Plastochinon.



**Abb. 1.4.1** Plastochinon n= 6-10

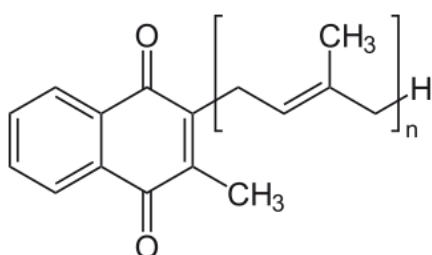


**Abb. 1.4.2** Ubichinon n= 10

Im Photosystem I werden ebenfalls Elektronen vom angeregten (und dadurch radikalischen) Chlorophyll, über Zwischenstufen Elektronen auf Phyllochinone weitergeleitet. Das pflanzliche Phyllochinon entspricht in seiner Funktion dem festgebundenen Plastochinon des Photosystems II. Das Phyllochinon im PSI wird durch eine Ein-Elektronenreduktion zur hochreaktiven, radikalischen Semichinonform des Phyllochinons reduziert, von dort aus wird das Elektron auf das eisenhaltige Protein Ferredoxin übertragen. Die NADP<sup>+</sup> - Reductase überträgt das Elektron auf NADP<sup>+</sup>, und die energiereichen Elektronen werden so im NADPH gespeichert.<sup>53, 17</sup>

### 1.2.3 Vitamin K<sub>2</sub>

Vitamin K<sub>2</sub> auch Menachinon, oder bakterielles Vitamin K, enthält einen höherpolymeren Isoprenrest: eine lipophile, mehrfach ungesättigte Seitenkette von variabler Länge, in all-trans-Konfiguration. Die verschiedenen Menachinone unterscheiden sich durch die Anzahl der Isopreneinheiten in ihrer Seitenkette, von 4 bis 13, also zwischen 20 und 65 C – Atomen. Die am häufigsten vorkommenden Menachinon-Formen sind Vitamin K<sub>2</sub> (30) mit 6 Isopreneinheiten und Vitamin K<sub>2</sub> (35) mit 7 Isopreneinheiten <sup>40</sup>.



**Abb. 1.5** Vitamin K<sub>2</sub>, Menachinon  
Bsp.: n=6 Menachinon-6, MK-6 oder Vitamin K<sub>2</sub> (30)  
Bsp.: n=7 Menachinon-7, MK-7 oder Vitamin K<sub>2</sub> (35)  
(n= Zahl der Isoprenreste)

### 1.3 Oxidans, Antioxidans

KLAUS et al. konnten zeigen, dass Menadion, aber auch andere Naphthochinonderivate wie 1,4-Naphthochinon, sowie 5-Hydroxynaphthochinon und Plumbagin (5-Hydroxy-2-Methyl-Naphthalen-1,4-diol) auf tierische Zellen cytotoxisch wirken, durch die Bildung von großen Mengen ROS (reactive oxygen species), oxidative Schädigung der DNA-Basen, Akkumulation von DNA-Strang-Bruchstücken und Verringerung des antioxidativen zellulären Glutathions GSH. Es kam zu einem starken Anstieg von oxidativen Stresssignalen durch Aktivierung der Autophosphorylierung des EGF-Rezeptors und der Rezeptor Tyrosinkinase Erb-B2, die durch ein Superoxid Dismutase (SOD) Mimetikum wieder abgeschwächt werden konnten, was darauf hindeutet, dass die durch die Naphthochinonderivate induzierten ROS – Mechanismen mitverantwortlich für die EGF-Rezeptor-Aktivierung sein dürften. Darüber hinaus konnte beobachtet werden, dass die Naphthochinonderivate Lawson (2-Hydroxy-1,4-Naphthochinon) und Lapachol (4-Hydroxy-3-Naphthalen-1,2-diol) nicht oxidativ wirkten.<sup>19, 47, 62, 125</sup>

Phyllochinone (Vitamin K<sub>1</sub>) wirken in vitro sehr viel weniger mutagen als Menadion<sup>38</sup>. In der älteren pharmazeutischen Literatur, sind zwar sowohl Menadiolnatriumbisulfit als auch Phyllochinon als oxidierende Arzneimittel bekannt und dürfen im (sehr seltenen) Fall eines genetisch bedingten Glukose-6-Phosphatdehydrogenase-Mangels mit chronischer hämolytischer Anämie nicht verabreicht werden, da es zu hämolytischen Krisen beim Patienten kommen kann.<sup>93, 106</sup> Aber möglicherweise ist eine antioxidative Wirkung des VK<sub>1</sub> in Betracht zu ziehen. Eine Bostoner Studie untersuchte 2003 die antioxidative Wirkung von Phyllochinon und Menachinon 4. Es wurde die Rolle von Vitamin K<sub>1</sub> und K<sub>2</sub> in der Verringerung der oxidativen Schädigung in neuronalem Gewebe erforscht. Vitamin K<sub>1</sub> und K<sub>2</sub> (MK-4) konnten in Kulturen von Corticalneuronen und Oligodendrocyten signifikant oxidativen Zelltod verringern, der durch intrazellulären Glutathionmangel verursacht wurde. Der Mechanismus dürfte unabhängig von der Funktion des VK als Cofaktor für die Biosynthese der  $\gamma$  – Carboxyglutaminsäure sein, da weder Oligodendrocyten, noch Neuronen nennenswerte VK-abhängige Carboxylase- oder Epoxidaseaktivität besitzen.<sup>76</sup>

Das wirft einige Fragen auf, u.a. in Bezug auf die chemische Struktur des VK<sub>1</sub> und VK<sub>2</sub> und deren antioxidativen Eigenschaften, insbesondere der isoprenoiden Seitenkette und des Reaktionsverhalten in vivo. Analogien lassen sich nicht aus der strukturellen

Ähnlichkeit zum Vitamin A schließen, da seine antioxidative Eigenschaft an die ununterbrochene Abfolge konjugierter Doppelbindungen der isoprenoiden Seitenkette gebunden ist, was die Phyllochinonseitenkette mit einer Doppelbindung nicht aufweist. Auch nicht zum Vitamin E, für dessen antioxidative Wirkung die phenolische Hydroxygruppe am 6er C Atom des Chromanolrings Voraussetzung ist und nur durch unterschiedliche Methylgruppensubstitution am Benzolring variiert.

Die WissenschaftlerInnen der in vitro Untersuchung der Texas A&M University sehen, aufgrund ihrer Beobachtungen, in der strukturellen Ähnlichkeit sehr wohl einen Zusammenhang, in denen die antioxidative Aktivität von Vitamin K<sub>1</sub> (2-methyl-3-phytyl-1,4-Naphthochinon) durch Reduktion der Linolsäureoxidation, in direktem Verhältnis zur VK<sub>1</sub> - Konzentration gemessen werden konnte. Dabei zeigte VK<sub>1</sub> eine equimolare 80 prozentige Effektivität von Vitamin E (D- $\alpha$ -Tocopherol), umgekehrt potenzierten Vitamin K<sub>1</sub>-Hydrochinone die Linolsäureoxidation und damit die Entstehung hochreaktiver Radikale (der bereits bekannte cytotoxische Effekt vieler Chinone). Besonders auffällig ist die antagonistische Wechselwirkung zwischen Vitamin E und K. Vitamin E konnte im Versuch die durch VK<sub>1</sub>-Hydrochinon induzierte Linolsäureoxidation signifikant vermindern, die ForscherInnen vermuten die Radikalfängerfunktion von VE im Reoxidieren von VK<sub>1</sub>-Semichinonen. Darüberhinaus hemmte VE die VK-abhängige Carboxylierung und Epoxidbildung, auch hier vermuten die ForscherInnen das Abfangen von VK<sub>1</sub>-Semichinonen, was auch erklären könnte, warum höhere Dosen VE die Blutgerinnung deutlich beeinflussen und die Plättchenadhäsion verringern (insgesamt die Blutungszeit verlängern) können.<sup>18</sup>

Aufgrund der Tatsache, dass die Karzinogenese u.a. mit dem Auftreten von freien Radikalen in Verbindung gebracht wird, scheint die Bildung von VK<sub>1</sub>-Semichinonen durch die Oxidation von VK<sub>1</sub>-Hydrochinonen bzw. die Reduktion von (Phyllo-) Chinonen in menschlichen Membranen als naturwissenschaftlich relevant und damit auch die Untersuchung toxischer VK<sub>1</sub> – Mengen. Aufgrund der Synergismen und Interaktionen antioxidativ wirksamer Substanzen können Megadosen eines einzelnen Antioxidans weniger effektiv als eine kombinierte Supplementierung sein, und unter Umständen sogar zu einer Wirkungsumkehr führen, und prooxidativ wirken. Beispielsweise gibt es viele Untersuchungen zur Korrelation zwischen hoher Aufnahme von isoliertem  $\beta$  – Carotin und erhöhtem Lungenkrebsrisiko. Ebenso viele Hypothesen versuchen den Wirkungsmechanismus zu erklären, u.a. mittels

prooxidativen Eigenschaften von  $\beta$  – Carotin und DNA-Oxidation. Festgestellt wurde aber auch, wenn  $\beta$  – Carotin in physiologischer Dosierung aufgenommen oder supplementiert wurde, oder in Kombination mit Vitamin C und E, keine kanzerogene Wirkung, sondern protektive Effekte hinsichtlich des Lungenkrebsrisikos beobachtet werden konnten.<sup>49</sup> Unter welchen Bedingungen es zu einer Wirkungsumkehr kommt und Antioxidantien im Organismus als Prooxidantien wirken können hängt von vielen Faktoren ab.

Die tödliche, bzw. wachstumshemmende Wirkung von oxidierenden Substanzen wird in der Krebstherapie auch genutzt, wie z.B. in der Chemotherapie zur gezielten Behandlung von malignen Tumorzellen. Neben vielen anderen bekannten Oxidantien wurde auch Menadion im bereits bestehenden Krankheitsfall auf seine schädigende Wirkung auf Krebszellen untersucht.<sup>81, 87, 118</sup>

#### **1.4 Biologische Wirksamkeit**

Mit dem Begriff biologische Wirksamkeit oder Vitamin K Wirksamkeit war zunächst im Sinne des Entdeckers Henrik Dam die antihämorrhagische Wirkung gemeint. Die isoprenoide Seitenkette ist für die antihämorrhagische Vitamin K-Aktivität, wie bereits angeführt, nicht erforderlich, der unsubstituierte 2-Methyl-1,4-Naphthochinon-Grundkörper (Menadion) weist die höchste biologische Aktivität auf, was bereits in den 1940er Jahren dokumentiert wurde und bis heute Gültigkeit hat.

Noch in den 1940er Jahren war man der Meinung, alle Vitamin – K – aktiven Naphthochinonderivate würden im menschlichen Organismus in das sog. Methylnaphthochinon (Menadion) überführt, das dort allein, biologisch am wirksamsten sei. Diese Vermutung sollte sich für die Praxis vorerst als überaus praktisch erweisen. Menadion war ein leicht zugängliches, einfach darzustellendes Ausgangspräparat, mit der größten biologischen Aktivität, schien gut vertragen zu werden und wurde somit von Wissenschaftlern sowohl in Europa, als auch in Übersee als Standardsubstanz für sämtliche Tierversuche festgelegt. Aufgrund seiner Lichtempfindlichkeit wurde es bald mit Säuren verestert und durch das stabilere 2-Methyl-1,4- Diacetyl-Naphthohydrochinon ersetzt. Da man vermutete, dass es zu einer einfachen Abspaltung der Säurereste im Organismus kommt und das Natriumsalz des Methylnaphthochinons (Menadions) gut wasserlöslich ist, eignete es sich für die parenterale Therapie und machte es damals für die klinische Anwendung besonders zweckmäßig. Dieses Natriumsalz des Methylnaphthochinons wurde erstmals von Roche mit der Produktbezeichnung Synkavit® synthetisiert, auf den Markt gebracht und klinisch vor allem an gesunde Neugeborene (oral, parenteral subkutan oder intramuskulär) verabreicht, zur Prävention des Morbus Haemorrhagicus Neonatorum MHN. Erst viele

Jahre später rückte die Cytotoxizität des Menadions und seiner Derivate ins Blickfeld der Untersuchungen.<sup>45, 68</sup>

Seit den 1980er Jahren erklärt sich seine Wirksamkeit dadurch, dass Menadion (und seine wasserlöslichen Derivate) enzymatisch zu Vitamin K<sub>2</sub> alkyliert wird, also im tierischen Organismus durch Einbau der isoprenoiden Seitenkette in Menachinon-4 umgewandelt wird<sup>56</sup>. Wie bereits toxikologisch betrachtet, ist von der Verwendung in der Humanmedizin und -ernährung abzuraten.<sup>40</sup>

Unter den substituierten (mit isoprenoider Seitenkette am C<sub>3</sub>) K - Vitaminen selbst variiert die biologische Wirksamkeit sehr stark<sup>40, 67</sup>. Für die Aktivität muss die hydrophobe, isoprenoide Seitenkette in jedem Fall in trans-Konfiguration vorliegen, da die cis-Isomere biologisch inaktiv sind. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass die isoprenoide Seitenkette, die auch Teilstruktur von Retinoiden und Tocopherolen ist, in den Carotinoiden ebenfalls fast immer trans-konfiguriert vorliegt, die Vitamin-A-Wirkung ist jedoch, wie bereits erwähnt, an die ununterbrochene Abfolge konjugierter Doppelbindungen gebunden.<sup>38, 44</sup>

| <b>K VITAMERE</b>           | <b>BW</b> | <b>K VITAMERE</b>           | <b>BW</b> |
|-----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|
| Vitamin K <sub>1</sub> (20) | 100       | Vitamin K <sub>2</sub> (5)  | 5         |
| Menadion                    | 100       | Vitamin K <sub>2</sub> (10) | 15        |
| Vitamin K <sub>1</sub> (5)  | 5         | Vitamin K <sub>2</sub> (15) | 40        |
| Vitamin K <sub>1</sub> (10) | 10        | Vitamin K <sub>2</sub> (20) | 100       |
| Vitamin K <sub>1</sub> (15) | 30        | Vitamin K <sub>2</sub> (25) | 120       |
| Vitamin K <sub>1</sub> (25) | 80        | Vitamin K <sub>2</sub> (30) | 100       |
| Vitamin K <sub>1</sub> (30) | 50        | Vitamin K <sub>2</sub> (35) | 70        |

**Tab.1.1** Die biologische Wirksamkeit BW verschiedener K-Vitamine mit unterschiedlicher Länge der Seitenkette bei der K-Avitaminose des Hühnchens, bezogen auf Vitamin K<sub>1</sub>(20) = 100 nach Wiss, Weber, Rüegg und Isler, 1959<sup>67</sup>

Ob nun die Kettenlänge von unter 8 C- Atomen die biologische Wirkung sehr stark reduziert oder gänzlich eliminiert, wird unterschiedlich diskutiert.

Ebenso kontrovers wird die Bedeutung der Methylgruppe in C<sub>2</sub>-Stellung für die biologische Aktivität beurteilt<sup>13,14, 40, 44, 89</sup>. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass auch Derivate des Naphthalins, die keinen Chinon- oder Hydrochinoncharakter besitzen, starke Vitamin K Wirksamkeit aufweisen, wenn sie als Voraussetzung am



C2 eine Methylgruppe tragen, was beim antiquarisch bezeichneten Vitamin K<sub>6</sub> einem 2-Methyl-1,4-diaminonaphthylin und beim 2-Methyl-1-oxy-4-diaminonaphthalin der Fall ist<sup>94, 105</sup>.

Die biologische Aktivität von verschiedenen Menachinonen wurde an der Kobe Pharmaceutical University in Japan untersucht. Dabei verglichen die ForscherInnen die Coenzymaktivität von natürlichem MK-4 und synthetischen MK-Analoga an der  $\gamma$ -Glutamylcarboxylase. MK-4 zeigte die größte Aktivität, das synthetische MK-4, das am Seitenkettenende mit einer Hydroxylgruppe substituiert wurde, zeigte ebenfalls sehr große Aktivität. Die Wissenschaftler vermuten einen Zusammenhang in der Interaktion von hydrophoben und - durch terminale Hydroxylierung - hydrophilen Seitenketteneigenschaften und der VK-bindenden Seite der  $\gamma$ -Glutamylcarboxylase.

Des Weiteren wurden die apoptoseinduzierenden Eigenschaften der verschiedenen MK in Krebszellkulturen ermittelt. In den humanen Leberkrebszellkulturen HepG2 und Huh-7 konnte keine signifikante Apoptose mit Menachinonen festgestellt werden. In Osteosarkomzellkulturen (häufigster maligner Knochentumor) MG-63 konnte hingegen eine dosisabhängige apoptoseinduzierende Aktivität nachgewiesen werden. Die physiologische Aktivität änderte sich auch mit der Länge der Seitenkette, ansteigend von MK-2 und seinen Analoga über MK-3 (und Analoga) bis MK-4 (und Analoga). Dabei zeigten die synthetischen, am Seitenkettenende mit Aldehydgruppen substituierten MK die größte Aktivität, die  $\omega$ -hydroxylierten Analoga hingegen weniger und die natürlichen Menachinone die geringste.<sup>107</sup>

Die Darstellung der biologischen Aktivität der K – Vitamere soll verdeutlichen, wie gering seine strukturelle Spezifität im Hinblick auf seine Wirksamkeit in biologischen Systemen ist, soll aber auch dazu veranlassen, ein ebenso unspezifisches Reaktionsverhalten und Wirkungsspektrum im menschlichen und tierischen Organismus nicht auszuschließen oder in Betracht zu ziehen.

## **1.5 Stabilität**

Phyllochinon bzw. pflanzliches Vitamin K ist ein gelbes viskoses Öl, lipophil, löslich in Fettlösemitteln (Ether, Aceton, etc.) sowie in Pflanzenölen. Es ist stabil gegen Luft und Feuchtigkeit, ist aber empfindlich gegen Licht und zersetzt sich bei Temperaturen über 100°C. Es ist beständig gegenüber schwachen Säuren, und instabil gegen Alkalien und Reduktionsmittel.

Vitamin K<sub>2</sub>(35) bzw. MK-7 auch verwendet unter der Bezeichnung bakterielles Vitamin K hat ähnliche Eigenschaften wie das Vitamin K<sub>1</sub>.

Vitamin K<sub>3</sub>, 2-Methyl-1,4-Naphthochinon, Menadion wird synthetisch hergestellt und ist ein hellgelbes kristallines Pulver, das Haut und Atmungsorgane reizt. Es ist unlöslich in Wasser und löslich in Fettlösemitteln. Es ist unempfindlich gegenüber Sauerstoff, in öliger Lösung auch gegen Hitze wird jedoch durch Einwirkung von Licht, Alkalien, starken Säuren und reduzierenden Substanzen zersetzt.<sup>40, 94</sup>

Über die Reaktionen in Lebensmitteln ist weniger bekannt. Bei der Hydrierung von Ölen wird die Doppelbindung in der Seitenkette angegriffen. Hydriertes Vitamin K<sub>1</sub> wird absorbiert, allerdings scheint die biologische Aktivität nicht mehr so hoch zu sein wie in der natürlichen Form<sup>11</sup>.

## **1.6 Allgemeine Analytik**

Der klassische, biologische Nachweis der Vitamin K Konzentration eines Substrates bildete lange Zeit der kurative Test: Messung der Gerinnungszeit am Vollblut von Küken mit Vitamin K Mangel, die zuvor einen definierten Zeitraum (2-3 Wochen) Vitamin K frei gefüttert werden. Auch mit Antikoagulantien (z.B. Cumarin) vorbehandelte Küken (auch Kaninchen werden als Testtiere verwendet) wurden/ werden im Tierversuch verwendet, um den Prothrombinspiegel zu senken. Danach folgt(e) die Vitamin K Applikation. Man hat versucht die Vitamin K Wirksamkeit der verschiedenen K-Vitamere auf diese Art zu differenzieren, indem man versuchte, vor und nach der Zufuhr abgestufter Mengen einer unbekannten Probe mit Menadion zu vergleichen. Diese Methodik ist zu unspezifisch und durch effektivere Testmethoden abgelöst worden.

Bei der Bestimmung von Vitamin K Verbindungen in biologischem Material hat sich heute fast ausschließlich die HPLC durchgesetzt. Für die quantitative Bestimmung wird die Probe in organisches Lösungsmittel extrahiert und in der Regel chromatographisch, am wirksamsten mittels HPLC getrennt, danach mit unterschiedlichen Methoden detektiert, z.B. (spektro)photometrisch. Auf diese Art können die einzelnen K-Vitamere, wie verschiedene Menachinone und cis- und trans-Isomere der Phyllochinone getrennt und in verschiedenen Substraten mengenmäßig bestimmt werden. Heute ist die HPLC die bevorzugte Trennungs- und Bestimmungsmethode in akkreditierten Prüfungslabors, wenn es um die amtlichen

Kontrollen von Vitamin K in Futtermitteln oder auch Phyllochinon in Babynahrung geht.<sup>38, 40, 44, 94, 126, 127</sup>

## **1.7 Die wichtigsten Handelsformen und derzeitige Verwendung**

### **1.7.1 Humanmedizin und -ernährung**

Indikationen für die parenterale und/oder orale Anwendung von Vitamin K (Phyllochinon bzw. Konakion®) als Arzneistoff sind alle Leber und Gallenerkrankungen, bei denen durch mangelhafte Resorption der fettlöslichen K-Vitamine eine unzureichende Synthese der Gerinnungsfaktoren stattfindet, Hypoprothrombinämie der Neugeborenen, Sterilisierung des Darmes durch Breitbandantibiotika, alle chronischen Funktionsstörungen des Darmes, die mit einer Fettresorptionsbehinderung verbunden sind, als Antidot zu den Cumarin-Derivaten, zur Behebung von Pharmaka-Nebenwirkungen (z.B. Salicylat-Therapie).<sup>78, 85</sup>

Nicht gestillten Säuglingen wird die Vitamin K Zufuhr durch Zusatz der Säuglingsanfangsnahrung gesichert. Die Richtlinie der EU über Säuglingsanfangsnahrung (2006/141/EG) bestimmt die gesetzlich vorgegebene Zusammensetzung und regelt den Vitamin K – Zusatz in chemischer Form (Phyllochinon) und Menge (min. 1µg/100g max. 6 µg/100g)<sup>130</sup>. MilCHFertignahrungen sind mit VK auf das etwa 20-fache der MM angereichert<sup>129</sup>.

Im pharmazeutischen Fachhandel und am Internetmarkt ist Vitamin K<sub>1</sub> sowohl in Form von Multivitaminpräparaten und Nahrungsergänzungsmitteln als auch als Monopräparat erhältlich. Die Produkte werden z.T. nach wie vor mit Gesundheitsversprechen beworben, die gegen die health claims Verordnung<sup>128</sup> verstoßen. Selbst Vitamin K<sub>3</sub> (!) und Vitamin K<sub>4</sub> werden als Bestandteile von sogenannten fat burner Produkten (wie Eltroxin®) in der Bodybuildingbranche verkauft.

Das hoch wirksame Menadion wurde in den 1980er Jahren in fettlöslicher Form als Menadioldibutyrat und davor in wasserlöslicher Form als Menadion-Natriumhydrogensulfit und Menadioldiphosphat-Natriumsalz synthetisch erzeugt. Dieses Menadioldiphosphat-Natrium wurde lange Zeit als Wirkstoff für ein Antihämorrhagikum im deutschsprachigen Raum erzeugt, auch bekannt unter dem Herstellernamen Synkavit® von Roche Pharma AG, und als Vitamin K Prophylaxe VKP an Neugeborene verabreicht um dem Morbus Haemorrhagicus Neonatorum MHN vorzubeugen. Mittlerweile wurde der Synkavitwirkstoff durch Phytomenadion

in Konaktion MM®, dem derzeit in Österreich meist eingesetzten Präparat der gleichen Herstellerfirma ersetzt. Phytomenadion wird neben Roche von Infectopharm Arzneimittel und Consilium GmbH in Deutschland unter dem Produktnamen KA-VIT® produziert.

### **1.7.2 Tiernahrung und -arzneistoffe**

In der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung insbesondere in der Geflügelhaltung werden neben Vitamin K1 Menadionderivate nach wie vor eingesetzt und wurden 1998 von der EMEA (Europäischen Agentur für die Beurteilung von Arzneimitteln) nach durchlaufener Toxizitätsstudie als toxikologisch unbedenklich beurteilt. Bei dieser Studie wurde die Toxizität von Phytomenadion und Menadion an Mäusen untersucht, wobei die LD50 bei oraler Verabreichung bei 25g/kg bzw. 500mg/kg Körpergewicht lag. Es wurden jedoch keine Studien zur Verträglichkeit am Zieltier sowie zur Toxizität, Mutagenität, Karzinogenität und Fötotoxizität durchgeführt, bzw. wurde bei der Risikobewertung dokumentiert, dass dergleichen Studienergebnisse „nicht verfügbar sind“<sup>126</sup>

Beim Vogel, dessen Dickdarm im Gegensatz zum Säuger sehr kurz ist, werden keine ausreichenden Mengen Vitamin K synthetisiert<sup>120</sup>. Besonders das Huhn ist daher gegenüber einer K-Avitaminose empfindlich, bei intensiv gehaltenem Geflügel kommt hinzu, dass eine Grünfütterung entfällt. Während der Bedarf von Rindern und Schweinen an Vitamin K überwiegend durch die mikrobielle Eigensynthese im tierischen Dickdarm gedeckt wird, wird beim Kalb und beim Ferkel in der Nutztierhaltung aufgrund der unzureichenden mikrobiellen Darmbesiedelung ein Sicherheitszusatz empfohlen. Dabei sind Vitamin K1, MPB Menadion-Dimethylpyrimidinolbisulfit-Präparat, MSB Menadion-Natriumbisulfit-Präparat, MSB Menadion-Natriumbisulfit-Reinsubstanz und MNB Menadion-Nicotinsäureamid-Bisulfit-Präparat für alle Tierarten in allen Futtermitteln (auch Haustiernahrung) ohne Mengenbegrenzung zugelassen, wenn auch Empfehlungen vom Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie festgelegt werden.<sup>126</sup>

## **2 Der Morbus haemorrhagicus neonatorum MHN und die Einführung der Vitamin K Prophylaxe VKP**

### **2.1 Definition des MHN**

Die Säuglingssterblichkeit, insbesondere der MHN galt bis zur ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts als wichtiges pädiatrisches Problem, mit einer stark variierenden Häufigkeit. In deutschen Kliniken zwischen 1937 und 1942 führte GAETHGENS zwischen 4 und 25% der Neugeborenen Todesfälle auf den MHN zurück, wobei der Autor den Grund für die Schwankung in der Unklarheit der Diagnosestellung angibt<sup>44</sup>. Es wurden unterschiedliche Definitionen des Begriffes verwendet, wie z.B. von TOWNSEND oder SALOMONSEN, „Haemorrhagic disease of the newborn HDN bzw. Blutungskrankheiten beim Neugeborenen“ und „Morbus haemorrhagicus neonatorum“ verwendet. Wie unterschiedlich einzelne Autoren die Blutungsformen in ihren Studien ursächlich einordneten geht aus ihren Untersuchungen hervor und lässt über die tatsächliche Inzidenz des MHN in den Jahrzehnten vor der Einführung der generellen VKP nur Schätzungen zu<sup>12, 59, 97</sup>. In erster Linie wurde das Geburtstrauma für die Neugeborenensterblichkeit verantwortlich gemacht, der MHN wurde als Sammelbegriff für intracranielle Blutungen (auch aufgrund geburtstraumatischer Kapillarschäden des Schädels), die Melaena neonatorum, sowie die übrigen Haut und Schleimhautblutungen der ersten Lebenstage des Säuglings (mit und ohne Begleiterscheinungen, wie z.B. den Ikterus) verwendet<sup>45</sup>. Heute wird der MHN zusätzlich durch Lungenblutungen definiert und intracranielle Blutungen im Allgemeinen. International wird der MHN von der WHO als hämorrhagische Krankheit beim Föten und Neugeborenen HDN (inkl. Vitamin K – Mangel beim Neugeborenen) als P53 der ICD-10-WHO-Version-2011<sup>133</sup>.

Während noch in den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts versucht wurde, den MHN nach vasculären, koagulopathischen und traumatischen Einteilungsprinzipien zu differenzieren und in Untergruppen zu klassifizieren, und in dieser Weise kausal auf den Grund zu gehen, so setzt sich in den zahlreichen aktuellen Untersuchungen und Studien dazu die Bezeichnung Vitamin K Mangelblutung (VK deficiency bleeding VKDB) durch. Mittlerweile werden unter MHN bzw. HDN Neugeborenenblutungen als VKDB zusammengefasst, denen ein VK Mangel zugrunde liegt. Viele Wissenschaftler sprechen sich für die Notwendigkeit der internationalen Verwendung des Begriffes VKDB anstatt dem noch verwendeten HDN als medizinischen Terminus aus.

SUTOR, von KRIES, CORNELISSEN, MCNINCH und ANDREW definieren VKDB als Blutung, die aufgrund einer unzureichenden Aktivität Vitamin K – abhängiger Gerinnungsfaktoren (II, VII, IX, X) auftritt, behebbar durch Vitamin K Einsatz. Es werden 3 Formen VKDB unterschieden: Die f r ü h e VKDB (< 24h post partum), die fast ausschließlich auf mütterliche Medikamenteneinnahme von Antikonvulsiva, oralen Antikoagulantien, Antibiotika, Antituberkulostatika zurückzuführen ist, die k l a s s i s c h e VKDB (1. – 7. Lebenstag), bedingt durch ausschließliches Stillen und/oder verzögerte/unzureichende Nahrungszufuhr, und die s p ä t e VKDB (2. – 8. Woche, selten bis 6. Monat) die fast immer bei gestillten Säuglingen und/oder bei Cholestase auftritt. Die Ursachen für das Auftreten von VKDB sind zum einen unbekannt (idiopathisch), zum anderen wird eine sekundäre VKDB angenommen, die durch Prädispositionen, wie z.B. Stillen, Absorptionsstörung bzw. zu geringe Nahrungsaufnahme hervorgerufen wird.<sup>109</sup>

## **2.2 Häufigkeit des MHN vor der generellen VKP**

Im deutschsprachigen Raum geben nur wenige Quellen über die Häufigkeit des MHN vor Einführung der VKP Aufschluss. JENNY und GSCHWEND, der Universitätsfrauenklinik Zürich beispielsweise haben in den Jahren 1950 – 1956 eine umfangreiche Statistik zu den einzelnen Blutungsformen erstellt<sup>59</sup>. Auf insgesamt 22 561 Geburten wurden 718 Neugeborenenblutungen verzeichnet, das entspricht 3%. Wobei Genitalblutungen und Kephalthämatome mit eingeschlossen wurden, die nicht zum MHN gezählt werden, den Großteil 428 Fälle also 1,90% der Blutungen ausmachten. Genitalblutungen sind auf hormonelle Einflüsse und Kephalthämatome meist auf schwere, protrahierte Geburten zurückzuführen. Intracranielle Blutungen hatten die klinisch größte Bedeutung mit 240 Fällen (=1,06%), 138 davon verliefen tödlich, um die wichtigsten Zahlen vorab zu erwähnen. Nach heutiger Definition lässt sich anhand der Statistik in der Züricher Universitätsfrauenklinik eine Inzidenz des MHN in der Schweiz 1950 – 1956 von 1,29% errechnen (Kephalthämatome und Genitalblutungen lt. korrekter MHN Definition ausgenommen).

Das Ziel der Züricher Untersuchung lag darin, den Anteil der Gerinnungsstörung vom Anteil des Geburtstraumas, der Anoxie oder der Unreife des Neugeborenen beim Zustandekommen des MHN abzugrenzen. Diese Auswertung soll nun umrissen werden. Eine Blutgerinnungsstörung wurde wie folgt definiert: Quick-Werte < 15%, Gerinnungszeiten > 5 min, Thrombozyten < 100 000.

| <b>NEUGEBORENEBLUTUNGEN</b><br><b>GESAMT 1950 - 1956</b> | <b>FRÜH</b> | <b>KLASS</b> | <b>GERINNUNGSSTÖRUNG</b> | <b>TOTAL</b><br><b>718</b> |
|----------------------------------------------------------|-------------|--------------|--------------------------|----------------------------|
| Genitalblutungen                                         | -           | 222          | -                        | 222                        |
| Kephalhämatom                                            | k.A.*       | k.A.*        | 40                       | 206                        |
| Melaena und Hämatemesis                                  | 8           | 14           | 22                       | 22                         |
| Subkutane Hautblutungen                                  | 7           | 6            | 5                        | 13                         |
| Hämaturie                                                | 1           | 1            | 2                        | 2                          |
| Nabelblutungen                                           | -           | 1            | k.A.*                    | 1                          |
| Intracranielle Blutungen                                 | 173         | 67           | k.A.*                    | 240                        |
| davon tödlich                                            | 120         | 18           |                          | 138                        |
| Subcapsuläre Leberblutungen                              | 3           | 4            | 7                        | 7                          |
| Nebennierenblutungen                                     | 1           | 4            | 5                        | 5                          |

**Tab. 2.1** Häufigkeit, Unterscheidung der einzelnen Blutungsformen und Anzahl der ermittelten Gerinnungsstörungen nach JENNY und GSCHWEND, Zürich, 1958 (k.A. bedeutet hier: es wurden keine Angaben von den Autoren gemacht), mit korrekter Klassifikation in frühen und späten MHN

Bei den Genitalblutungen zeigten die Mädchen keine Gerinnungsstörungen. 40 von 206 Neugeborenen mit Kephalhämatom wiesen eine Gerinnungsstörung auf, auffallend war der Anteil von 72% an Erstgebärenden bei dieser Blutungsform. Melaena und Hämatemesis trat bei 22 Säuglingen auf, 3 davon starben (die Autoren geben die Melaena als Begleitursache des Todes an, nicht als Hauptursache), alle 22 Melaenafälle zeigten eine Gerinnungsstörung. Die subkutanen Hautblutungen traten bei 13 Neugeborenen auf, 5 davon wiesen eine Gerinnungsstörung auf, auffallend ist das Geburtsgewicht von über 3500g in 75% der Hautblutungsfälle. Bei zwei Neugeborenen mit Hämaturie konnte ebenfalls eine Gerinnungsstörung nachgewiesen werden. Zum Gerinnungsstatus der einzigen Nabelblutung finden sich keine Angaben in der Studie. Die größte klinische Bedeutung haben die intracraniellen Blutungen mit einer Anzahl von 240, wovon 138 tödlich verliefen. Auch hier ist auffallend, dass 99 Neugeborene (von 108 stark untergewichtigen) ein Geburtsgewicht von weniger als 2000g hatten, diese zeigten bereits in der ersten Lebensstunde Symptome, hier wird den sog. unreifen Kindern „Lebensschwäche“ und Anoxie als entscheidender Faktor zugeordnet. Besonders bemerkenswert ist, dass nur wenige intracranielle Blutungen der untergewichtigen Säuglinge eine Gerinnungsstörung aufwiesen (es werden leider keine genauen Zahlen angegeben,

nur eine Tabelle mit ungenauer Prozenteinteilung), der Prozentsatz der asphyktischen Kinder aber besonders hoch war, auch war die Mehrzahl der Mütter erstgebärend.

Während bei den Kindern mit >2000g Geburtsgewicht der Anteil der Sofortblutungen viel geringer war, so war der Anteil der Gerinnungsstörung bedeutend höher und hatte vermehrt „Spätblutungen“ (von den Autoren werden Blutungen nach 24h post partum als Spätblutungen bezeichnet, das entspricht heute dem klass. MHN) zur Folge. Selten waren subcapsuläre Leberblutungen (7) und Nebennierenblutungen (5) zu beobachten. In allen Fällen zeigte sich eine Hypoprothrombinämie mehr als 24h nach der Geburt.

JENNY und GSCHWEND, die Autoren dieser Studie rücken als Beurteilungskriterium der Behandlung das Geburtsgewicht ins Blickfeld. Zusammenfassend bewerten sie die Blutungsprophylaxe mit einem Geburtsgewicht von unter 2000g als nicht sinnvoll, da die Hauptursachen der Blutungsformen nicht der Gerinnungsstörung zuzuordnen seien, bzw. es sich meistens um Sofortblutung (bereits bei bzw. gleich nach der Geburt) handelte, wobei eine Therapie mit Blut- und Plasmatransfusion in Kombination mit Vitamin K zu keinen positiven Ergebnissen führten, da sie zu spät kamen und nicht mehr wirksam sein konnten. Als Todesursache wird die sog. Lebensschwäche angegeben. KOLLER<sup>68</sup> hingegen gibt in solchen Fällen zu einem Teil auch intracranielle Blutungen als Todesursache an, vor allem bei Frühgeborenen.

Bei Säuglingen >2000g, ganz besonders bei übergewichtigen >3500g wird eine Blutungsprophylaxe empfohlen, da sich in dieser Gruppe vermehrt Gerinnungsstörungen hauptsächlich bei „Spätblutungen“ (= klass. MHN) zeigten. Die Autoren betonen jedoch, dass vaskuläre Insuffizienz und Gefäßläsionen (traumatisch oder anoxisch bedingt) beim Zustandekommen von Neugeborenenblutungen eine entscheidende Rolle spielen, ein Gefäßschaden bei normalen Gerinnungsverhältnissen jedoch weniger Gefahren in sich birgt.

Angaben zum verwendeten VK-Präparat und zu den Spätfolgen wurden nicht gemacht, auch ist nicht schlüssig, ob und welche Begleiterkrankungen den Säuglingen zugrunde lagen, d.h. bei wie vielen Neugeborenen es sich um reife, gesunde Säuglinge handelte. Auffallend ist die hohe Säuglingssterblichkeit im Untersuchungsintervall (1950 – 1956) insgesamt.



Vitamin K wurde bereits in den 40er Jahren des 20. Jh.s, sehr bald nach seiner Entdeckung als vielversprechende Behandlung von Gerinnungsstörungen beim Neugeborenen eingesetzt. KOLLER beispielsweise, betont die Effektivität und die Einfachheit der Therapie mit Synkavit®, aber auch die Wirkungsdauer. Außerdem spricht er sich für die Prophylaxe der zu intracraniellen Blutungen neigenden Neugeborenen aus, d.h. Frühgeburten und Fälle von lang andauernder, schwerer Geburt, und rät darüber hinaus zur VK – Therapie bei an Icterus gravis erkrankten Säuglingen. Untersuchungen und statistische Daten finden sich bei ihm nicht. Ende der 50er Jahre haben im deutschsprachigen Raum einige Kinderärzte nach längerem Einsatz von Vitamin K ihre Zurückhaltung ausgesprochen und sich in ihrer Praxis gegen eine generelle Vitamin K Prophylaxe und Therapie ausgesprochen. Zum einen wurden schwere Gerinnungsstörungen nur als Teil einer uneinheitlichen Ätiologie, folge dessen nicht als Hauptursache der Neugeborenenblutungen betrachtet und auch nur teilweise mittels Vitamin K behandelt, zum anderen definierte man eine physiologische Gerinnungsstörung, die eine Blutungsgefahr darstellte, aber nicht dazu führen muss. Zudem wurden auch offenkundig Bedenken gegenüber dem damals verwendeten Vitamin K Präparat Synkavit® ausgesprochen und Konaktion® als Alternative empfohlen<sup>60</sup>. WILLI et al weisen auf den Zusammenhang von Synkavit®verabreichung und vermehrten hämolytischen Krisen verbunden mit Bilirubinanstieg im Serum, Icterus, Anämie und Innenkörperbildungen in den Erythrozyten bei Frühgeborenen hin<sup>120</sup>, WESPI beobachtete darüber hinaus auch bei ausgetragenen Neugeborenen nach Synkavitgabe vermehrtes Auftreten eines „physiologischen“ Icterus<sup>119</sup>.

In diesem Zusammenhang muss unterstrichen werden, wie viele Beobachtungen, insbesondere die der side effects auf die Wahl der VK-Präparate (synthetischer Menadionderivate), die uneinheitliche Dosierung und die z.T. massiv überhöhte Verabreichung (auch in den Untersuchungen der AAP zugrundeliegenden empfohlenen VKP) zurückzuführen sind.

Unabhängig vom VK-Präparat, nimmt die allgemeine Lehrmeinung jedoch nur für einen kleinen Teil der Blutungen einen Prothrombinmangel an<sup>59, 12, 60, 64</sup>, als gesichert galt damals eine Hypoprothrombinämie bei Melaenafällen<sup>12</sup>. Große Bedenken hat man in Bezug auf die Funktionsschwäche der Neugeborenenleber (bes. Frühgeborenenleber), da die Bildung der Gerinnungsfaktoren eine funktionstüchtige Leber voraussetzt, darüber hinaus könne ein Sauerstoffmangel, z.B. eine Asphyxie zu

einer Leberschädigung führen, in beiden Fällen würde „VK“ keine Wirkung zeigen. Es werden darüber hinaus Befürchtungen geäußert, eine hohe Dosis „VK“ könne einen schweren Ikterus hervorrufen [Jochims, Schomerus]. WESPI und VEST berichten über vermehrten Kernikterus aufgrund höherer Dosen Synkavit® bei Frühgeburten<sup>119</sup>.

BELLER kommt zum Schluss, dass die Hypoprothrombinämie als Ursache des MHN eine untergeordnete Bedeutung hat, zum selben Ergebnis kommt auch KOCH, dass zwischen der Blutungsbereitschaft des Neugeborenen und dem Prothrombinspiegel keine Parallele bestehe. Die eigentliche Ursache wird nicht in den erniedrigten Gerinnungsfaktoren vermutet, sondern in einem zusätzlichen Risikofaktor, der hinzukommen soll. KOCH versucht diese Annahme durch seine Beobachtung von Neugeborenen mit pathologisch niedrigen Gerinnungswerten und keinen auftretenden Blutungserscheinungen zu erhärten<sup>12, 64</sup>.

### **2.3 Das U.S.amerikanische Konsensuspapier und die wissenschaftlichen Grundlagen für seinen Beschluss**

Führende Mediziner des Komitees für Ernährung der American Academy of Pediatrics AAP waren überzeugt von der Effizienz und den Vorteilen einer generellen VKP und beschlossen 1961 die Einführung einer VKP für alle gesunden Neugeborenen als Präventivmaßnahme gegen den MHN.<sup>20</sup> Die europäische Pädiatrie zog schließlich Jahre später nach, und damit auch die Österreichische Gesellschaft für Kinder und Jugendheilkunde<sup>132</sup>. Auch die AAP sah in der unterschiedlichen Diagnosestellung des MHN (bzw. HDN) ein Problem und definierte die hemorrhagic disease of the newborn als hämorrhagische Fehlsteuerung der ersten Lebenstage, verursacht durch Vitamin K Mangel und charakterisiert durch einen Mangel an Prothrombin, Proconvertin und vermutlich an anderen Faktoren. Aus den unterschiedlichen Definitionen resultierten auch im Konsensuspapier 1961 die stark streuenden Angaben zur Häufigkeit.

Während Mediziner, die nach TOWNSEND definierten, alle sichtbaren und nicht sichtbaren Blutungen zum HDN zählten, definierten andere wiederum nur äußere Blutungen (inkl. vaginale Blutungen) als HDN, wogegen sie peritoneale und cranielle Blutungen auf die Folgen eines Geburtstraumas zurückführten, nicht jedoch eines HDN. Zudem wurde laut ABALLI et al. (einer der beiden Verfasser des AAP Konsensuspapiers) Hämatemesis und Melaena, wenn das Blut verschluckt wurde, oft nicht erkannt.

Die grundlegenden Anhaltspunkte zu der Inzidenz hämorrhagischer Erkrankungen Neugeborener bildeten für die AAP die Untersuchungen von ABALLI et al, SMITH, VIETTI et al, SANFORD et al und POTTER<sup>20</sup>. Als minimale effektive Dosis, um der verlängerten Prothrombinzeit vorzubeugen, gibt die AAP 1mg VK<sub>1</sub> i.m. bzw. 1-2mg VK oral an das Neugeborene an.

SANFORD et al führten 1949 eine klinische Studie<sup>97</sup> durch, die die Prothrombinwerte von n= 100 f r ü h g e b o r e n e n Säuglingen über einen Zeitraum von 18 Monaten erfasste. 83 erhielten keine VKP, die anderen 17 erhielten VKP (2 – 5mg subkutan, welches VK - Präparat ist in der Studie nicht angegeben!) sofort nach Eintreffen im Krankenhaus, diese 17 Frühgeborenen wurden außerhalb des Studienkrankenhauses geboren, meist unter ärmlichen Verhältnissen und mangelhafter Pflege.

Die Wissenschaftler kamen zum Schluss, dass Vitamin K den Prothrombingehalt des Blutes steigern konnte, cerebrale Blutungen in beiden Gruppen aber in der gleichen Häufigkeit auftraten und die Gabe von Vitamin K zur Reduktion hämorrhagischer Erkrankungen ohne klinische Basis wäre. Die Mortalität der Kontrollgruppe lag bei 12%, die der Interventionsgruppe bei 47%, wobei die Wissenschaftler betonen, dass die Mortalität unabhängig von der VK-Gabe war, und erklären sich den Grund für den Unterschied in der Pflege des Frühgeborenen während und nach der Geburt. Blutungen manifestierten sich bei 6% der unbehandelten Gruppe und bei 24% der mit VK behandelten Gruppe.

Bei der behandelten Gruppe handelte es sich um einen Melaenafall (am ersten Tag, verstorben), einen Hämatemesisfall (am zweiten Lebenstag), 2 Frühgeborene starben am 3. und am 4. Tag aufgrund einer cerebralen Blutung (die Autoren geben als Haupttodesursache Asphyxie an). 90% starben innerhalb der ersten 48 Stunden. Bei der Kontrollgruppe kam es 2 mal zu Melaena (in den ersten beiden Lebenstagen, Prothrombingehalt normal), 1 mal zu subkutanen Blutungen (am zweiten Tag, Prothrombingehalt über 50%), 1 mal zu Nabelblutung (8. Tag, Prothrombin 82%, mechanische Ursache), 1 mal zu Hämatemesis (an den ersten beiden Lebenstagen), die Blutungen klangen innerhalb der darauffolgenden Tage spontan ab.

Inwiefern diese Studie und deren Zahlen zur Rechtfertigung einer generellen VKP beim gesunden Neugeborenen herangezogen werden kann ist fraglich, da frühgeborene Säuglinge die Zielgruppe der Untersuchung bildeten und daher nicht als repräsentativ für eine generelle VKP gesunder, reif geborener Säuglinge herangezogen werden kann, sondern wie bereits damals von den Medizinern betont

wird, für solche, die einer speziellen medizinischen Versorgung bedürfen. Aus heutiger Sicht sind frühgeborene Neugeborene einem besonders hohen Blutungsrisiko neben anderen Risikofaktoren ausgesetzt, für die eine VKP gerechtfertigt scheint<sup>132</sup>. Zudem wird in der Studie keine Angabe zum verwendeten VK-Präparat gemacht. Da die unerwünschten Wirkungen damals üblicher synthetischer Menadionpräparate heute geklärt sind und diese aus toxikologischen Gründen nicht mehr verwendet werden, bleibt die Frage nach den Auswirkungen aufgrund der Wahl des Präparates offen, jedoch nicht von weniger Interesse. Darum soll diese Studie mit den Worten der durchführenden Wissenschaftler abschließend bewertet werden: (...) dass, *die Gabe von VK an frühgeborene Säuglinge im Bemühen, hämorrhagische Erkrankungen zu senken, ohne klinische Basis ist*<sup>97</sup>.

Aus welchem Grund diese Studie Eingang in den Report des Ernährungskomitees der AAP fand, war anfangs unklar. Es stellte sich aber heraus, dass SANFORD<sup>97</sup> zwar im Report der AAP 1961<sup>20</sup> zitiert wurde, die Daten zur Inzidenz des MHN von ihm allerdings aus POTTER entnommen wurden, primär also aus einer anderen Untersuchung (nämlich der oben beschriebenen) zitiert wurde. Laut POTTER haben SANFORD und LESLIE 1938 dokumentiert, dass nur 2 Fälle von HDN von 5500 Neugeborenen nachgewiesen werden konnten, was einer Inzidenz von 1:2750 entspricht<sup>91</sup>.

POTTER selbst führte im Chicago Lying-in Hospital von 1941 bis 1944 mit einer Gesamtgeburtenrate von 13 190 eine klinische Studie durch. In den ersten zwei Jahren erhielten die Schwangeren als Interventionsgruppe mit n= 6004 3,2mg Menadionnatriumbisulfit (Hykinone®) i.m. zwischen 1 und 6 Stunden vor der Geburt. In den beiden darauffolgenden Jahren wurde die VK-Verabreichung gestoppt, die Kontrollgruppe umfasste n= 6548 Mütter lebendgeborener Säuglinge. Endpunktparameter der Studie bildete die Mortalität in den ersten 10 Lebenstagen. Die Mortalitätsrate in der Studiengruppe (1941 – 1942) betrug 13,5/1000 Lebendgeborene, in der Kontrollgruppe (von 1943 – 1944) ebenfalls 13,5/1000 Lebendgeborene. Die Totgeburtenrate der Studiengruppe betrug 16,4/1000, der Kontrollgruppe 12,3/1000 Geburten. POTTER fasst zusammen, dass eine generelle VK-Gabe während der Geburt and die Schwangere die Säuglings- bzw. Fötussterblichkeit nicht signifikant beeinflussen konnte und diese „niedrigen“ Zahlen (laut POTTER) entsprächen denjenigen vieler anderer Geburtshilfeskliniken mit qualifizierter Geburten- und Wochenbettbetreuung.<sup>91</sup>

Aus heutiger Sicht ist die Wahl des VK-Präparates toxikologisch problematisch, aufgrund dessen kann die Studie nicht als repräsentativ bewertet werden. Der im Studiendesign gewählte Endpunktparameter „Mortalität“ kann aus rein systematischen Überlegungen keinen Aufschluss über die Effektivität einer generellen VKP zur Verhütung des MHN geben, da zahlenmäßig nicht daraus hervorgeht, inwieweit die Säuglingssterblichkeit grundsätzlich auf den MHN zurückgeführt werden kann. Folgedessen könnte kein schlüssiges Ergebnis von der Effektivität des eingesetzten Präparates auf den MHN erzielt werden. Die Untersuchung gibt lediglich mit einer Mortalität der Kontrollgruppe von 13,5/1000 Aufschluss über die Säuglingssterblichkeit der ersten 10 Lebenstage in den 40er Jahren in US-amerikanischen Geburtshilfekliniken, bzw. über die Totgeburtenrate mit 12,3/1000 Geburten.<sup>91</sup>

Es konnte zwar in anderen Untersuchungen nachgewiesen werden, dass durch die Gabe von 10mg Menadionnatriumdiphosphat i.v. an die Mutter die Aktivität von Prothrombin und Proconvertin im Neugeborenen signifikant verändert werden, doch effektiv auf die Gerinnungswerte wirkten erst extrem hohe Dosen an die Mutter (50mg Menadionnatriumdiphosphat, bzw. 75mg Menadionnatriumbisulfit), die bei den Säuglingen u.a. Hyperbilirubinämie verursachten, abgesehen von den bereits toxischen Mengen. Vom Ernährungskomitee der AAP wird aus der vorliegenden Datenlage resultierend, eine VKP des Säuglings nach der Geburt empfohlen, anstatt der VKP der Mutter während der Geburt.<sup>20</sup>

Was die Wahl des VK-Präparates betrifft, gibt das Ernährungskomitee der AAP 1961 folgende Stellungnahme ab: das sicherste und damit Mittel der Wahl ist Vitamin K<sub>1</sub> (Phytomenadion), auch die wasserlöslichen, synthetischen als VK-Analoga bezeichneten Verbindungen, wie Menadion, Menadionnatriumbisulfit (amerikanischer Herstellername: Hykinone®) und Menadionnatriumdiphosphat (amerikanischer Herstellername: Synkayvite®) werden als wahrscheinlich sicher bewertet, wenn die Dosierung eingehalten werde. Es wird eine parenterale Gabe von 0,5- 1mg oder eine orale Gabe von 1,0 – 2,0mg als Goldstandard empfohlen (wobei Menadion von der oralen Gabe aufgrund des starken Brechreizes ausgenommen wird). Obwohl bereits damals in einigen Untersuchungen, die in das Konsensuspapier eingegangen sind, von hämolytischer Anämie, Hyperbilirubinämie und Kernicterus, bei früh- und reifgeborenen Säuglingen und Störungen des Gluthathionstoffwechsels in den Erythrozyten nach der parenteralen Gabe von Synkavit und z.T. von Menadionnatriumbisulfit berichtet wird (wie bereits im deutschsprachigen Raum dokumentiert wird), werden diese als Hypothesen ohne Evidenz bewertet und eine moderate, niedrige Dosis als toxikologisch sicher eingestuft.<sup>20</sup>

Im Konsensuspapier werden nach POTTER und SANFORD schließlich „üblicher beobachtete“ Inzidenzzahlen des HDN zitiert, wie z.B. die von SMITH, der nach seinen Beobachtungen 1/400 (0,25%) verzeichnen konnte (Originalstudie ist nicht mehr verfügbar) und ABALLI et al. (einer der beiden Verfasser des Konsensuspapiers), der in einer Untersuchung kubanischer Neugeborener eine Inzidenz von 1/300 errechnete.

ABALLI et al. führten zwischen Dezember 1955 und August 1958 eine Studie<sup>1</sup> in Kuba durch, die den Status der Blutgerinnungsfaktoren von Neugeborenen vor und nach der Gabe von VK zum Untersuchungsgegenstand hatte, es sollte der Wert der VKP für alle gesunden Neugeborenen und Zahlen zur Inzidenz des HDN ermittelt werden. Dabei wurden Neugeborene von n=8400 Geburten (zw. 2255 und 4730g, sowohl vaginale als auch Sectio-Geburten) in einer für damalige Verhältnisse schlecht ausgestatteten Wohltätigkeitsgeburtshilfeklinik für sozial bedürftige Mütter der „unteren Klasse“, vorwiegend (2/3) Afroamerikanerinnen untersucht. Dabei klassifizierten die Autoren 26 Fälle von HDN mit einer Inzidenz von 1/300 Geburten, die mit Menadion behandelt wurden. Frühgeburten unter 2250g, ebenso Neugeborene mit Erkrankungen, Infektionen oder Traumata wurden ausgenommen, 9 erlitten einen frühen HDN (2 davon bei der Geburt), 17 einen klassischen, der späte wurde statistisch nicht erfasst. VK wurde therapeutisch im ersten Untersuchungsjahr in 10mg Dosen verabreicht, in den darauffolgenden Jahren wurde VK in Mengen zwischen 2 und 4 mg gegeben, als Präparat wurde 2-Methyl-1,4-Naphthochinon (Menadion) unter dem Herstellernamen „Kapilon“ verwendet. 3 Neugeborene verstarben trotz der Behandlung mit VK und wiesen bei der Autopsie eine Fettleber auf (diese wird von den Autoren auf Anoxie während der Geburt zurückgeführt).

Nach der korrekten Definition des HDN nach ABALLI et al. zeigen alle HDN Fälle eine extrem verlängerte Prothrombinzeit, eine fast gänzliche Abwesenheit von Proconvertin und einen Rückgang der Thromboplastenaktivität (diese Ergebnisse stammten von n=17 Blutproben). Vom HDN zu differenzieren wären dabei Blutungen aufgrund kapillarer Verletzlichkeit, die „physiologische“ Verlängerung der Gerinnung und die veränderte Leberfunktion aufgrund von Hypoxie.

Diese Inzidenzzahlen wurden allerdings in einer für U.S. Amerika ethnisch nicht repräsentativen Bevölkerungsgruppe ermittelt, bei den Müttern handelte es sich um von der Gesundheitsversorgung und sozialen Leistungen benachteiligte Menschen.

Medikamenteneinnahme in der Schwangerschaft wurde von den Autoren nicht berücksichtigt, beispielsweise wurde eine Mutter während der Schwangerschaft gegen Syphilis behandelt. Zudem wurde die Geburtshilfelinik unter ärmlichen Verhältnissen mit schlechter Ausstattung geführt.<sup>1</sup> Bedingungen, die gegen eine repräsentative Inzidenzzahl des HDN sprechen, um als Grundlage für europäische VKP Richtlinien dienen zu können.

Die Werte von ABALLI et al. und SMITH wurden herausgehend aus dem AAP Konsensuspapier von den Verfassern als die repräsentativsten Ergebnisse zur Begründung der generellen VKP herangezogen. Basierend auf den Ergebnissen der VIETTI-Studie wird die Notwendigkeit aufgrund der vorliegenden HDN-Inzidenzen und des signifikanten Ergebnisses durch VK-Gabe einer generellen VKP für alle gesunden Neugeborenen begründet.

VIETTI et al führten 1960 in Texas eine randomisierte, kontrollierte klinische Studie mit n= 470 männlichen Neugeborenen durch. Dabei wurden in einem Zeitraum von 3 Monaten der Studiengruppe, bestehend aus 240 männlichen Neugeborenen nach einer Zirkumzision an den geradzahligen Tagen des Monats 5 mg Menadionnatriumbisulfit (Hykinone®) i.m. verabreicht. Die Kontrollgruppe bildeten 230 männliche Neugeborene mit Zirkumzision an den ungeradzahligen Tagen des Monats, sie erhielten kein Menadionnatriumbisulfit. Die Zirkumzision wurde ca. 24 h nach der Geburt durchgeführt, wobei der Chirurg nicht davon in Kenntnis gesetzt war, welche Säuglinge ein Antihämorrhagikum erhielten und welche nicht (doppelblind). Ziel war die Ermittlung der postzirkumzisionalen Blutungen mit und ohne Intervention mit „Vitamin K“. Das Ergebnis ist signifikant: 6/240 (2,5%) Neugeborenen der Studiengruppe und 32/230 (13,9%) der Kontrollgruppe wiesen eine postzirkumzisionale Blutung auf. Die Gabe von „VK“ konnte die Blutungen signifikant reduzieren. Ebenso konnten der Prothrombinabfall im Plasma der Studiengruppe mit der Menadionnatriumbisulfitgabe nachweislich verhindert werden.<sup>117</sup>

Zur Einschätzung der Inzidenz des (klassischen) MHN bzw. HDN bei gesunden Neugeborenen können diese Zahlen jedoch nicht herangezogen werden, da die Neugeborenen durch den chirurgischen Eingriff in einem Zeitraum physiologisch erniedrigter Prothrombinwerte einem erhöhten Blutungsrisiko ausgesetzt wurden. Zudem bestand durch die Nachblutungen keine generelle Gefährdung für den

Säugling (nach Angabe der Autoren) da diese mittels lokaler blutstillender Maßnahmen und der Gabe von Vitamin K<sub>1</sub> - Oxid i.v. effektiv gestillt werden konnten. Die untersuchte Zielkrankheit war die Zirkumzisionsblutung, nicht der MHN bzw. HDN. Zudem sind in diesem Fall andere Maßnahmen möglich, die Blutungen zu verhindern, wie z.B. die Wahl eines physiologisch stabileren Zeitpunktes der Durchführung, oder eine Gerinnungsanalyse, um einen VK – Mangel präoperativ auszugleichen. Daher ist eine von den Autoren schlussgefolgte generelle VKP für alle gesunden Neugeborenen nicht gerechtfertigt. Es wurde lediglich festgestellt, dass durch die VKP postoperative Blutungen durch eine VKP signifikant reduziert werden konnten, bzw. wie bereits vielfach davor untersucht, ein Prothrombinabfall verhindert werden konnte.

#### **2.4 Häufigkeiten des klassischen und späten MHN heute**

Die AAP bezieht sich damals wie heute in ihren Empfehlungen auf eine Häufigkeit der klassischen VKDB vor der VKP von 0,25% bis 1,7%. Grundlage zur Einschätzung der Häufigkeit sind u.a. bis heute ältere Studien, siehe oben.<sup>20, 21</sup>

Auf dem Hintergrund dieser Daten interessiert eine aussagekräftige, aktuelle Interventionsstudie mit dem Hintergrund heutiger, repräsentativer, medizinischer Standards ganz besonders, zur Ermittlung der Inzidenz des MHN mit und ohne VKP. So mag das Ergebnis einer p r o s p e k t i v e n Studie von McNINCH und TRIPP zwischen Dezember 1987 und März 1990 in Großbritannien und Irland<sup>83</sup> überraschend anmuten. Die Studie sollte Zahlen zur Inzidenz des HDN mit und ohne VKP und deren Effektivität liefern. Die Inzidenz für Säuglinge ohne VKP lag sehr niedrig: 78 Fälle auf 1 671 000 Geburten. Davon wurden 25 als HDN bestätigt, 2 als wahrscheinlich betrachtet, 13 mögliche und 15 als „no case“ (aufgrund spezieller Erkrankungen, unvollständiger Daten, usw.) definiert. Wie in den anderen Studien von McNINCH wurden die bestätigten und wahrscheinlichen Fälle als HDN klassifiziert und statistisch ausgewertet, was mit 27 Fällen eine sehr niedrige, gesicherte Inzidenz des HDN von 1,62/100 000 ergibt, Häufigkeit des klassischen HDN 0,60/ 100 000 und des späten HDN 1,02/ 100 000, nach Aufrechnung der Blutungsformen nach dem Zeitpunkt ihres Auftretens (siehe Tab. 1.2).



| HDN BLUTUNGSFORMEN    | ANZAHL | VKDB KLASSIFIKATION IN |           |      |
|-----------------------|--------|------------------------|-----------|------|
|                       |        | FRÜH                   | KLASSISCH | SPÄT |
| Haut- und Schleimhaut | 4      | 1                      |           | 3    |
| gastrointestinal      | 9*     | 6                      |           | 2    |
| intracraniell         | 10     |                        |           | 10   |
| Nabelblutungen        | 3      | 1                      |           | 2    |
| Hämaturie             | 1      | 1                      |           |      |

**Tab. 2.2** HDN Blutungsformen, Häufigkeit, Unterscheidung und Einordnung in VKDB  
Formen nach dem Zeitpunkt ihres Auftretens; nach McNINCH und TRIPP, 1991

\*Angabe des Zeitpunkts von 1 Fall nicht vorhanden

Alle Neugeborenen waren voll entwickelt, bis auf eines (Steißgeburt mit Zange) wurden alle normal vaginal geboren, mit einem Geburtsgewicht von 2280 – 3800g. 19 Säuglinge erhielten keine VKP, 6 erhielten orales Vitamin K<sub>1</sub> und von 2 waren keine Daten diesbezüglich vorhanden. 2 Säuglinge davon mit intracranieller Blutung starben.

4 HDN Säuglinge (von 6), die eine orale VKP erhalten hatten zeigten Lebererkrankungen (3  $\alpha$ 1 antitrypsin deficiency, 1 Hepatitis), während nur bei 3 HDN Säuglingen (von 19) ohne VKP eine Lebererkrankung feststellbar war (1  $\alpha$ 1 antitrypsin deficiency, 1 Hepatitis, 1 Icterus).

Eine darauffolgende r e t r o s p e k t i v e Studie von denselben Autoren, die mittels Fragebogen konsultierter Pädiater in Großbritannien und Irland zwischen 1993/94 (VKDB-94) und 2001/02 (VKDB-02) durchgeführt wurde, sollte ein weiteres Mal Zahlen zur Inzidenz des VKDB, Mortalität und Morbidität und erhaltene und nicht erhaltene VKP ermitteln. Konakion® wurde oral und parenteral (enthält Cremophor® EL, einen nichtionogenen Emulgator, Hauptbestandteile sind hydrophobe Fettsäureglycerin-polyglykolester und Fettsäurepolyglykolester, der kleinere, hydrophile Teil besteht aus Polyethylenglykolen und ethoxyliertem Glycerol) als Präparat verwendet.<sup>84</sup>

Die Responderquote betrug 93,1% und 92,5%. Klassifiziert wurden die VKDB-Fälle in „sichere“ (dokumentierte Blutungen und Prothrombinzeiten), „wahrscheinliche“ (Blutungen ohne Laborwerte), „doppelte“ (bereits aufgezeichnete Fälle), „no case“ (keine beobachteten Kriterien) und „error“.

In der **VKDB-94**<sup>84</sup> konnten 30 als sicher und 2 als wahrscheinlich definiert werden, mit n=32 bei einer Geburtenrate von 1 609 785. Was einer Gesamtinzidenz des HDN von 1,99/100 000,

einer Inzidenz des klassischen HDN von 0,19/100 000, und des späten HDN von 1,62/ 100 000 entspricht. In den beiden 2 wahrscheinlichen Fällen wurde ICH beobachtet, trotz relativ geringer verlängerter Gerinnungszeiten. 10 erhielten keine VKP, 16 erhielten 1 orale Dosis, 2 erhielten 2 orale VK-Gaben, 2 erhielten 3 x 1mg VK oral, und 2 erhielten eine einmalige i.m. Prophylaxe. Von den 32 Blutungen wurden 3 als „frühe“ (2 mit VKP, 1 ohne), 3 als „klassische“ (keines erhielt eine VKP) und 26 als „späte“ VKDB klassifiziert. Die drei „frühen“ Fälle von VKDB (2 erhielten VKP, 1 nicht) zeigten keine Leberfunktionsstörungen und erlitten keine Spätfolgen. Auch die 3 Säuglinge mit „klassischer“ VKDB, ohne VKP zeigten keine Leberfunktionsstörungen, bei 2 wurde eine gastrointestinale Blutung beobachtet, die wieder vollständig gesundeten (bei 1 davon wurde eine Malrotation mit Volvulus festgestellt), 1 wies eine ICH auf, war eine sehr schwierige Geburt und wies Mikrozephalie auf (die aufgrund ihrer Ursachen sehr unwahrscheinlicherweise auf die VKDB zurückzuführen ist). 6 von 26 Säuglingen mit „später“ VKDB erhielten keine VKP, in 1 Fall davon wurde eine Galaktosämie diagnostiziert, in den anderen 5 keine Lebererkrankung, 4 davon zeigten Nabel- und Hautblutungen und erholten sich vollständig, 2 davon wiesen eine ICH auf (1 darüber hinaus eine schwerwiegende zerebrale Atrophie und entwickelte einen Hydrozephalus, 1 keine Lebererkrankung und zeigte mit 14 Monaten eine normale, gesunde Entwicklung).

20 von 26 Säuglingen erhielten eine VKP in unterschiedlichen Verabreichungsdosen (2 i.m., 18 oral), 7 erlitten eine ICH, 3 davon gesundeten vollständig (1 davon ohne, 2 mit Lebererkrankung), die anderen 4 (3 wiesen eine Lebererkrankung auf) und trugen schwere Spätschäden davon, 1 davon starb mit 2 Jahren. Insgesamt musste bei 10 Säuglingen der 26 späten VKDB-Fälle eine Lebererkrankung (biliäre Atresie,  $\alpha$ -1 Antitrypsin deficiency, unspezifische Hepatitis, erbliches Alagille-Syndrom) diagnostiziert werden.

In **VKDB-02**<sup>84</sup> wurden 7 als „gesicherte“ und Null als „wahrscheinliche“ VKDB- Fälle definiert, mit n=7 bei einer Geburtenrate von 1 456 200. Das ergibt eine Gesamtinzidenz von 0,48/100 000, eine Inzidenz für den klassischen HDN von 0,34 und den späten von 0,13/100 000. 4 erhielten keine VKP und 3 erhielten eine VKP, 1 x i.m. und 2 x oral (zweifach, bzw. mehrfach). Von den 7 Blutungen wurden keine als „früh“, 5 als „klassisch“ und 2 als „späte“ VKDB klassifiziert. 4 Säuglinge von den 5 klassischen VKDB erhielten keine VKP, zeigten in 3 Fällen keine Lebererkrankung, 1 wurde nicht getestet, diese Säuglinge gesundeten vollständig und zeigten keine Spätfolgen. 1 Säugling mit i.m. VKP wurde nicht auf seine Leberfunktion überprüft, gesundete aber auch vollständig. Die beiden Säuglinge mit später VKDB erhielten mehrfach orale VKP, wiesen aber biliäre Atresie, bzw. cystische Fibrose auf.

In einer Auswertung der Studien von McNINCH einschließlich der von 1987-90 (VKDB-90) wird der Rückgang der VKDB zum Einen auf das Angebot der VKP zurückgeführt, da während der VKDB-90 ca. 14% der Neugeborenen, während der VKDB-94 3% und während der VKDB-02 0% die VKP nicht angeboten wurde. Zum Anderen stieg nach 1994 die Gabe der i.m. Prophylaxe im Verhältnis zur oralen, was sich auch nach Angabe der Autoren in der geringen Zahl der späten VKDB niederschlug.

Nach McNINCH entspricht das allgemeine Risiko ohne VKP eine VKDB zu erleiden 1/10 000. Doch wie hoch ist das Risiko unbehandelter Säuglinge in dieser Studie, Spätschäden zu erleiden, bzw. daran zu sterben? Das Risiko eines gesunden, reif geborenen Säuglings eine frühe VKDB zu erleiden, wenn die Risikofaktoren (mütterliche Einnahme spezieller Medikamente, wie oben angeführt) ausgeschlossen werden können, entspricht heute praktisch Null.

Die klassische VKDB tritt in der VKDB-94 mit einer Häufigkeit von 0,19/100 000 auf, wobei alle 3 Säuglinge mit klassischer VKDB keine VKP erhielten, bei 2 trat sie in Form von gastrointestinalen Blutungen auf, beide erholten sich rasch und zeigten keine Spätfolgen. 1 Säugling erlitt eine ICH, dieser zeigte jedoch eine angeborene Mikrozephalie, war eine sehr schwierige Geburt und ist aufgrund seiner Erkrankung in der Beurteilung einer VKP für gesunde Neugeborene auszuschließen, zudem stellt eine schwierige, lang andauernde Geburt ein zusätzliches Risiko dar. Die klassische VKDB stellte in dieser Studie für die gesunden Neugeborenen keine Gefährdung dar und zeigt eine sehr geringe Inzidenz für Säuglinge ohne VKP.

Die klassische VKDB tritt in der VKDB-02 mit einer Häufigkeit von 0,34/100 000 auf, wobei nur 1 Säugling von 5 eine (i.m.) VKP erhielt, bei 4 von den 5 gesund und reif geborenen Säuglingen verweigerten die Eltern die VKP, es handelte sich um rektale, Nabel- und Nasenblutungen, die keine Gefährdung darstellten, nur bei 1 wurde eine Zirkumzision in der ersten Lebenswoche durchgeführt, aufgrund dessen die Wunde vermehrt blutete, (dass dieser operative Eingriff ein zusätzliches Risiko darstellt und ein stabilerer Zeitpunkt gewählt werden kann, bzw. eine VKP in diesem Fall bei erniedrigten Gerinnungswerten indiziert wäre, könnte diesen Fall verhindern) alle Säuglinge erholten sich rasch. Auch in der VKDB-02 stellte die klassische VKDB für die gesunden Neugeborenen ohne VKP keine Gefährdung dar und tritt mit sehr niedriger Inzidenz auf.

Die späte VKDB zeigte sich in der VKDB-94 mit einer Häufigkeit von 1,62/100 000. Von den 6 Neugeborenen ohne VKP mit später VKDB stellte für 4 gesunde Säuglinge die Blutung keine Gefährdung dar, 2 davon waren durch eine ICH gefährdet, wobei 1 Neugeborenes nach 14 Monaten eine Entwicklungsverzögerung aufgeholt hatte und völlig gesundete, und 1 eine zerebrale Atrophie aufwies, inwiefern diese Blutung auf eine VKDB zurückzuführen ist lässt sich aus den vorliegenden Daten kaum beurteilen. Signifikant ist, dass der überwiegende Teil der Neugeborenen (20/26) mit später VKDB trotz VKP (überwiegend oral) eine Blutung aufwiesen, signifikant höher

sind die Fälle von Lebererkrankungen mit 50% der spät-VKDB trotz VKP (10/20, siehe oben) und die Spätschäden. Und deutlich ist auch das geringe Auftreten von später VKDB aufgrund i.m. VKP, diese dürfte die größte Effektivität zeigen, die späte VKDB zu verhindern. Die Häufigkeit der späten VKDB ist in der VKDB-02 mit 0,13/100 000 deutlich zurückgegangen, bei diesen VKDB-Säuglingen (Hautblutungen) wurde eine orale VKP verabreicht, es handelte sich nicht um gesunde Säuglinge, bei ihnen wurde biliäre Atresie bzw. cystische Fibrose diagnostiziert, Risikoerkrankungen der Leber für die VKDB, die vermutlich mit i.m. VKP verhindert werden hätten können.

## **2.5 Generelle Präventionsmaßnahme und Fragestellung**

Das Ziel der Prävention einer Erkrankung, hier: des vormals MHN (HDN) bezeichneten, heute VKDB ist, *durch gezielte Interventionsmaßnahmen das Auftreten (...) weniger wahrscheinlich zu machen bzw. zu verhindern oder zumindest zu verzögern*<sup>54</sup>. Ist der Rückgang des MHN im 21. Jahrhundert der Industrieländer tatsächlich auf die generelle VKP zurückzuführen? Die Untersuchungen von McNINCH geben Grund zu der Annahme, dass die Inzidenz des MHN aufgrund der unterschiedlichen Definitionen Mitte des letzten Jahrhunderts überschätzt wurde.

Der klassische MHN stellt für den Säugling ohne VKP nach Analyse dieser Studie keine Gefährdung dar, die Frage bleibt offen, ob sich aus dieser Studie allgemeine Schlussfolgerungen für die westlichen Industrieländer ziehen lassen. Die Geburtenrate umfasst zwar eine ausreichend große Untersuchungsgröße, die daraus resultierenden Fälle von klassischem MHN allerdings weniger, was umso mehr Aufschluss über seine deutlich niedrige Inzidenz ohne VKP gibt, siehe VKDB-90 0,60/ 100 000, VKDB-94 0,19/100 000, vgl. dazu Inzidenzen mit VKP in Schweiz, NL und Kanada (siehe unten).

Vielen Krankheiten, wie dem MHN, liegen mehrere Einfluss- bzw. Risikofaktoren zugrunde, oftmals sind weder alle bekannt, noch sind ihre Wechselwirkungen oder ihr Zusammenwirken geklärt, daher zielt die Prävention auch weniger als Eingriff in den Kausalzusammenhang ab, sondern auf die Beeinflussung der Risikofaktoren. Die Einfluss- und Risikofaktoren beruhen auf einer Wahrscheinlichkeitsbasis, und *nach heutigem Erkenntnisstand, ist keine exakte Wahrscheinlichkeitsaussage bei der Identifikation eines Risikofaktors möglich*. Daher gibt es keine Gewissheit, dass eine

Krankheit wie der MHN weniger wahrscheinlich, bzw. verhindert oder verzögert werden kann.<sup>54</sup> Aus dieser Denkweise resultiert die Art der Studienplanungen und – designs, und macht verständlich, dass in den überwiegenden älteren Untersuchungen das VK und dessen Einfluss auf Gerinnungswerte untersucht wurde. Dabei entdeckte man, dass VK sehr gut in der Lage ist, die physiologisch niedrigen Gerinnungswerte der ersten Lebenswoche von Neugeborenen, die einen Risikofaktor darstellen, auf Erwachseneniveau anzuheben. VK wird generell verabreicht, um diesen Risikofaktor auszuschließen. Die Ursache des MHN ist unbekannt, über dessen Ätiologie und weitere Risikofaktoren wurde noch vor einigen Jahrzehnten diskutiert. Es ist fraglich ob die Verwendung des medizinischen Terminus VKDB nicht die Forschung nach möglichen Ursachen stocken lässt. In den Studien der letzten zehn Jahre werden fast ausschließlich die Inzidenzen der VKDB untersucht. Die von den heutigen Pädiatern verlangte Neudefinition vom MHN bzw. HDN zur VKDB bestätigt den Werdegang dieser Sichtweise. Die Effizienz der VKP zur Verhütung der VKDB scheint geklärt, die Wissenschaft gibt sich zufrieden mit den heutigen Inzidenzen:

Zwischen 1995 und 2001 wurde in der Schweiz die Effektivität der MMKonaktion® (Mischmizellenlösung) untersucht. Auf n= 475 000 Geburten wurde keine frühe VKDB, eine klassische VKDB und 18 späte VKDB beobachtet (13/18 mit später VKDB lag eine Lebererkrankung zugrunde, 4/18 verweigerten die VKP). Die Inzidenz der späten VKDB mit MMKonaktion® lag bei 2,31/100 000 und für Konaktion® bei 3,79/100 000.<sup>98</sup> Die Häufigkeit der klassischen VKDB (mit Prophylaxe) beträgt 0,21/ 100 000.

Die späte VKDB wird von der AAP auf 4,4–7,2/100 000<sup>21</sup> geschätzt, CORNELISSEN et al schätzen die Häufigkeit der späten VKDB in den Niederlanden auf 1,1/100 000<sup>22</sup>, vor der landesweiten VKP auf 7/100 000.

In Kanada wird nach einer Untersuchung von 1997 – 2000 eine Inzidenz des HDN von 0,45/ 100 000 angegeben, dieses Ergebnis führen die Autoren auf die i.m. VKP zurück<sup>82</sup>.

Die Effizienz der i.m. VKP in Bezug auf die späte VKDB ist statistisch signifikant. Besteht für das gesunde Neugeborene aufgrund der VKP kein Gesundheitsrisiko, würde die Frage um die Inzidenz des MHN und Effektivität der VKP in den Hintergrund rücken, aber Golding et al haben 1992 auf einen möglichen Zusammenhang zwischen parenteraler VK Verabreichung und Krebserkrankungen

im Kindesalter (childhoodcancer) hingewiesen. Wie lässt sich die VKP vor einem potentiellen Gesundheitsrisiko vertreten und abwägen in Anbetracht der Ergebnisse der prospektiven und retrospektiven Studien von McNINCH, die eine auffallend niedrige Inzidenz ohne VKP nachweisen?

Aufgrund der guten Verträglichkeit des cremophorfreien VitaminK<sub>1</sub>-Präparates (im Gegensatz zu den vormals verabreichten synthetischen Menadionderivaten), für VK<sub>1</sub> wird kein UL (Upper Level) definiert, sind (ernährungs-)physiologische und biochemische Fragen offensichtlich in den Hintergrund gerückt. Trotzdem bleibt es für die Grundlagenforschung nicht weniger interessant, aus welchen Gründen VK kaum plazentagängig und nur gering in Muttermilch enthalten ist, Neugeborene nach Abnabelung aber trotzdem nicht verbluten. Könnte der noch nicht voll funktionsfähige Leberstoffwechsel eine Rolle spielen, über den VK physiologisch abgebaut wird? Was würde das bei einer hohen VK<sub>1</sub>-Konzentration im Säuglingsblut in einer Zeit der noch in Entwicklung befindlichen Leber bedeuten? Physiologischerweise gleichen sich nach der ersten Lebenswoche die Gerinnungswerte an, (obwohl VK nicht in großen Mengen in der MM an den Säugling abgegeben wird) der Körper des gesunden Säuglings ist ab diesem Zeitpunkt imstande, Blutungen selbst zu stillen.

Hier drängt sich die Frage nach der primären Ursache des späten MHN auf. Die späte Form der VKDB, die am häufigsten zwischen der 2. und 8. Lebenswoche auftritt, kommt sehr selten vor, aber gehäuft zwischen 30 und 60% in Form von intracraniellen Blutungen. Sie betrifft fast ausschließlich gestillte Neugeborene und trifft männliche Säuglinge öfter als weibliche. Der späte MHN ist zwar eine sehr seltene Erkrankung, jedoch aufgrund seiner Spätfolgen, und nicht selten seines letalen Ausgangs, ein wichtiges pädiatrisches Problem<sup>109</sup>. Was liegt dem späten MHN zugrunde, wie weit könnten Erkrankungen, wie z.B. der Leber eine Rolle spielen? Die Häufigkeit der diagnostizierten Erkrankungen (häufig Lebererkrankungen) bei Säuglingen mit später VKDB ist signifikant, noch dazu von Säuglingen trotz VKP, meist oraler VKP, was in diesen Fällen für die Effektivität der i.m. VKP spricht.

Vielleicht ist es möglich, anhand des vorliegenden Untersuchungsmaterials einige konkretere Schlussfolgerungen zu ziehen.

## 2.6 Die VKP in Österreichs Landeskliniken

In Österreich wird die empfohlene orale VKP mit 3 maliger Gabe von 2mg VK am 1. Lebenstag, zwischen 4. und 6. Lebenstag und zwischen 4. und 6. Lebenswoche regulär an allen gesunden Neugeborenen durchgeführt<sup>131</sup>, auch in Deutschland ist diese Form und Dosis der Verabreichung üblich. VON KRIES et al haben die Effektivität dieser Dosierung in Bezug auf die späte VKDB 1995 – 1998 statistisch erfasst. Die Inzidenz bei 3 maliger Gabe von 2mg lag bei 0,72/ 100 000, gegenüber der 3 x 1mg Dosis in den Jahren davor, mit einer Häufigkeit von 1,8/ 100 000<sup>70, 109</sup>.

Eine noch effektivere Prophylaxe der späten VKDB zeigt CORNELISSEN<sup>23</sup> 1mg oral bei der Geburt, dann 13 Wochen lang tägl. orale Gabe von 25 µg, die Studie wurde an einer sehr kleinen Fallzahl, n= 58, voll gestillter Säuglinge durchgeführt, wobei die täglich supplementierten 25 µg ca. der Hälfte der Aufnahme von VK aus Säuglingsanfangsnahrung entsprechen. Der Nachteil dieser Methode ist das unerkannt bleiben einer möglichen Cholestase aufgrund biliärer Atresie von scheinbar gesunden Säuglingen und der Gefahr von Blutungen. 1 mg wöchentlich soll diesen Säuglingen signifikant höheren Schutz bieten und zeigt ähnliche Effizienz wie die einmalige 2 mg i.m. Verabreichung<sup>52</sup>.

Dies konnten die Untersuchungen von von HANSEN bestätigen: Eine an n = 163 000 Säuglingen durchgeführte Untersuchung mit 2mg VK oral bei der Geburt, danach wöchentlich oral 1 mg für 13 Wochen führte ebenfalls zu einer höheren Effizienz<sup>51</sup>. Verglichen wurde mit n= 134 500 Säuglingen, die einmalig (1mg bei Geburt) überwiegend orales VK erhielten. Die Inzidenz der späten VKDB von 4,5/ 100 000 sank mit dem 13 wöchigen Schema auf Null.

Nur die intramuskuläre VKP mit 1 mg Phytomenadion nach der Geburt ist statistisch die effizienteste Methode, da sie beinahe alle Fälle der späten VKDB verhindern kann, wenn auch bei dieser Verabreichungsart hierzulande ein potentiellies Risiko für akute lymphatische Leukämie ALL nicht definitiv ausgeschlossen wird. Etabliert ist die i.m. VKP in den U.S.A., Kanada und Australien. Eine einmalige orale Verabreichung ist viel weniger effektiv, nur die anschließend wiederholte Gabe von entweder 1mg wöchentlich oder 25µg täglich zeigen eine der parenteralen Gabe annähernde Effektivität. Im Allgemeinen hat sich jedoch die dreimalige Gabe von 2mg VK<sub>1</sub> durchgesetzt.<sup>70, 132</sup>

### 3 Physiologie und Biochemie des VK

#### 3.1 Metabolismus

##### 3.1.1 Aufnahme, Biosynthese

Phyllochinon wird über pflanzliche Nahrungsmittel aufgenommen, v.a. über grünes Blattgemüse, kommt aber auch beträchtlich in anderen Gemüsen, einzelnen pflanzlichen Ölen, tierischen Lebern, (Vollkorn-)Getreide und einigen Hülsenfrüchten, nennenswert auch in einigen Obstsorten, Muskelfleisch, einzelnen Nüssen, und kaum in Milchprodukten vor<sup>101, 104</sup> und macht ca. 90% des über die Nahrung aufgenommenen VK aus. Nahrungs-Menachinon macht die restlichen 10% aus und stammt hauptsächlich aus tierischer Leber und bakteriell (nicht: durch Schimmelpilze oder Hefen) fermentierten Nahrungsmitteln, wie Käse im Westen und Natto in Japan (bakteriell fermentiertes Nahrungsmittel aus Sojabohnen), der MK Gehalt in Käse ist allerdings um das 20 – 40fache niedriger als in Natto. Die Aufnahme von MK wird auf ca. 7,5% MK-5 bis MK-9 und 2,5% MK-4 des über die Nahrung aufgenommenen VK geschätzt. Es ist trotz fehlender Nährstoffanalysen anzunehmen, dass frisches, grünes (Blatt-) Wildgemüse eine sehr reiche Vitamin K Quelle ist, wie z.B. Bärlauch, Wegericharten, Brennessel, Gartenmelde, Giersch, Guter Heinrich, Gundelrebe, Wilde Rauke, Sauerampfer, Scharbockskraut, Vogelmiere, usw,...<sup>25, 41, 101, 104, 116</sup>

| Lebensmittel (verzehrbarer Anteil)           | Portion (g) | µg je Portion   |
|----------------------------------------------|-------------|-----------------|
| <b>Grünes (Blatt-) Gemüse, Küchenkräuter</b> |             |                 |
| Grünkohl                                     | 100         | 817             |
| Spinat                                       | 100         | 307 (220 – 400) |
| Fenchelknolle                                | 100         | 240             |
| Kohlsprossen                                 | 100         | 236 (177 – 570) |
| Chinakohl                                    | 100         | 80              |
| Brokkoli                                     | 100         | (154) 60 – 205  |
| Häuptelsalat                                 | 100         | (113) 100 – 200 |
| Sauerkraut                                   | 100         | (62) 25 – 80    |
| Karfiol                                      | 100         | (57) 5 – 300    |
| Fisolen                                      | 100         | 43 (10 – 50)    |
| Karotte                                      | 100         | (15) 5 – 80     |
| Paprika<br>Zucchini                          | 100         | 11              |
| Paradeiser                                   | 100         | 5,7 (3 – 23)    |
| Petersilie                                   | 100         | (421) 360 – 790 |



|                                 |     |                                |
|---------------------------------|-----|--------------------------------|
| Schnittlauch                    | 100 | (380) 190 – 570                |
| Brunnenkresse                   | 100 | 250                            |
|                                 |     |                                |
| <b>Getreide</b>                 |     |                                |
| Weizenkeime                     | 100 | 131 (3 – 350)                  |
| Weizenkleie                     | 100 | 82 (80 – 83)                   |
| Haferflocken                    | 100 | 63                             |
| Hafer (entspelzt, ganzes Korn)  | 100 | 50 (10 – 80)                   |
| Mais (ganzes Korn)              | 100 | 40                             |
| Weizen (ganzes Korn)            | 100 | 0 (0-20)                       |
|                                 |     |                                |
| <b>Milch, Milchprodukte, Ei</b> |     |                                |
| Hühnerei                        | 100 | 8,9 (1,9 - 50)                 |
| Emmentalerkäse (45% F.i.T.)     | 100 | 2,6 (2,4 – 2,8)                |
| Cheddarkäse (50% F.i.T.)        | 100 | 2,3 (2,1 – 3,0)                |
| Frauenmilch (Muttermilch)       | 100 | 483 (300 – 4000)<br><b>ng!</b> |
| Kuhmilch (Vollmilch)            | 100 | 338 (300 – 360) <b>ng!</b>     |
| Cottagekäse (Hüttenkäse)        | 100 | 400 <b>ng!</b>                 |
| Joghurt (mind. 3,5% Fett)       | 100 | 340 <b>ng!</b>                 |
|                                 |     |                                |
| <b>Pflanzliche Öle</b>          |     |                                |
| Traubenkernöl                   | 100 | 280                            |
| Sojaöl (raffiniert)             | 100 | 138 (3 – 145)                  |
| Kürbiskernöl                    | 100 | 112                            |
| Olivenöl                        | 100 | 33 (17 – 50)                   |
| Maiskeimöl (raffiniert)         | 100 | 31 (2 – 60)                    |
| Weizenkeimöl                    | 100 | 24                             |
| Walnussöl                       | 100 | 15                             |
| Kakaobutter                     | 100 | 15                             |
| Kokosfett (raffiniert)          | 100 | 10                             |
| Sonnenblumenöl (raffiniert)     | 100 | 9,4 (1 – 10)                   |
|                                 |     |                                |
| <b>Früchte</b>                  |     |                                |
| Hagebutte                       | 100 | 92 (83 – 100)                  |
| Kiwi                            | 100 | 33 (25 – 34)                   |
| Ribisel (schwarz)               | 100 | 30                             |
| Avocado                         | 100 | 19 (8 – 40)                    |
| Weintraube                      | 100 | 15 (3 – 19)                    |
| Heidelbeere                     | 100 | 12                             |
| Ribisel (rot)                   | 100 | 11                             |
| Himbeere                        | 100 | 10                             |
| Pflaume                         | 100 | 8,3 (8,0 – 12)                 |
| Erdbeere                        | 100 | 5,5 (1,5 – 14)                 |

|                                    |     |                 |
|------------------------------------|-----|-----------------|
| Birne                              | 100 | 4,9             |
| Apfel                              | 100 | 3,7 (0,4 – 5)   |
| Marille                            | 100 | 3,3             |
| Pfirsich                           | 100 | 2,3 (2,1 – 3,0) |
| Kirsche (süß)                      | 100 | 1,5             |
|                                    |     |                 |
| <b>Muskelfleisch und Innereien</b> |     |                 |
| Rindfleisch (Muskelfleisch)        | 100 | 13 (4 – 21)     |
| Schweinefleisch (Muskelfleisch)    | 100 | 18              |
| Hühnerherz                         | 100 | 720             |
| Kalbsleber                         | 100 | 89 (27 – 150)   |
| Hühnerleber                        | 100 | 80 (80 – 570)   |
| Schweineleber                      | 100 | 56 (24 – 88)    |
|                                    |     |                 |
| <b>Hülsenfrüchte und Pilze</b>     |     |                 |
| Kichererbse (Samen, trocken)       | 100 | 264             |
| Mungbohne (Samen, trocken)         | 100 | 170             |
| Linse (Samen, trocken)             | 100 | 123 (22 – 223)  |
| Sojabohne (Samen, trocken)         | 100 | 39 (35 – 47)    |
| Erbse grün                         | 100 | 29 (7 – 37)     |
| Champignons (Zucht)                | 100 | 14 (8 – 23)     |
|                                    |     |                 |
| <b>Nüsse bzw. Schalenfrüchte</b>   |     |                 |
| Pistazie                           | 100 | 60 (49 – 70)    |
| Cashewnuss                         | 100 | 26              |
| Pekannuss                          | 100 | 10              |
| Haselnuss                          | 100 | 9               |
| Walnuss                            | 100 | 2               |

**Tab. 3.1** Vitamin K Gehalt in ausgewählten Lebensmitteln [aus SFK, 2000]

Bei der Zubereitung der Speisen ergeben sich kaum Verluste an VK, es ist gegen Hitze und Sauerstoff relativ unempfindlich, durch Einwirkung von Tageslicht allerdings wird es schnell zerstört.

Die hochdiverse bakterielle Besiedelung des menschlichen Darms variiert stark in Zusammensetzung, Darmabschnitt und Individualität (abhängig beispielsweise von Nahrungstransitzeit, Sekretion von Gallen- und Pankreasflüssigkeit). Die *Bacteroides* besiedeln den gesamten Intestinaltrakt, dominieren zahlenmäßig den Dickdarm und sind quantitativ am bedeutendsten in der Synthese von Menachinon, das als Endprodukt von Redoxreaktionen im Elektronentransport und der oxidativen

Phosphorylierung entsteht, meist in Form von langkettigen MKen, wie MK-10 und MK-11, weniger MK-7, MK-8, MK-9 und MK-12.<sup>101</sup>

Ob aus heutiger Sicht endogen synthetisiertes MK einen Beitrag in der Bedarfsdeckung leisten kann, wurde lange Zeit angenommen, bedarf aber in jedem Fall einer eingehenden Untersuchung, die im hier vorliegenden Rahmen nicht näher ausgeführt werden soll, da der anfänglich sterile Darm des Neugeborenen in den ersten Lebenstagen nicht zu einer Bedarfsdeckung beitragen kann und diese Frage somit für die vorliegende Arbeit eine untergeordnete Rolle spielt.

Es sei jedoch erwähnt, dass in der Tierernährung bereits seit Beginn der Massenproduktion von Fleisch bekannt ist, dass das Schwein seinen Bedarf größtenteils über die Absorption der im Dickdarm gebildeten Menachinone deckt, wenn auch der Aufnahme über die Koprophagie (Verzehr von Fäzes) Bedeutung zukommt, für Säugetiere und den Menschen hat man aufgrund der Darmflora lange eine Unabhängigkeit von der VK Zufuhr angenommen. Beim Menschen führen Erkrankungen des Dünndarms und parenterale Ernährung zu einem VK Defizit, was auf die untergeordnete Bedeutung der Menachinonversorgung aus dem Colon hindeutet, allerdings muss dabei eine zeitgleiche Aufnahme von Antibiotika berücksichtigt werden. Manche Antibiotika sind auch imstande, Enzyme des VK- Stoffwechsels zu hemmen (siehe Kapitel 3.3.2.3). Bei Vögeln ist ein VK Mangel experimentell leicht zu erzeugen, das Huhn, an dem die ersten VK-Mangelerperimente durchgeführt wurden und worauf sich die ersten Kenntnisse von VK stützten, besitzt eine sehr geringe enterale Bildung und Resorption von Menachinon, wodurch Küken in den ersten Lebenstagen schwache VK Speicher aufweisen. Der VK Gehalt der Eier wird von der VK Versorgung der Hühner beeinflusst, dadurch kommt Grünfütter in der Hühnerhaltung eine besonders große Bedeutung zu, siehe Kapitel 1.7.2.<sup>67</sup>

### **3.1.2 Resorption und Transport**

Die bisher bekannten Stoffwechselwege von der aufgenommenen Nahrung bis zur Zielzelle stützen sich auf das Wissen über Phyllochinon, weniger über Menachinon. Am besten untersucht ist das über die Nahrung aufgenommene MK-7. Viel komplizierter und unklarer sind Synthesursprung und Metabolismus von MK-4.

Die Absorptionsrate von Nahrungs-VK (VK<sub>1</sub> und MK<sub>7</sub>) beträgt 10 – 80%<sup>25, 15, 101</sup>, wird nach seiner Aufnahme aus der Lebensmittelmatrix aufgeschlossen an Lipoproteine gebunden im Blut transportiert und in den Zielzellen in seine biologisch aktive Form umgewandelt: Vitamin K Hydrochinon VKH<sub>2</sub>.

VK wird wie die anderen fettlöslichen Vitamine mithilfe von Triglyceriden (durch Gallensalze emulgiert) und Pankreaslipasen zu Mizellen geformt. Diese werden von

den Enterozyten der Dünndarmmukosa aufgenommen, dort entstehen daraus Chylomikronen CM, indem noch u.a. die für die Außenseite charakteristischen Apoproteine eingebaut werden, hier: ApoA und ApoB-48, sie dienen als Erkennungsmoleküle für Membranrezeptoren und als Reaktionspartner von Enzymen und Proteinen des Lipidstoffwechsels, wie der Lipoproteinlipase. Die CM werden in den Mikrovilli in die Lymphe abgegeben und gelangen von dort aus, unter Umgehung der Leber, über den Ductus thoracicus ins Blut.

Einmal im Blutkreislauf, nehmen diese Chylomikronen ApoC und ApoE aus HDL auf. In den Kapillaren der Muskel- und Fettgewebe spaltet die Lipoproteinlipase TG von den CM ab, TG kleiden dort die Kapillaren aus und die entstandenen Chylomikronreste CR gehen wieder in den Blutkreislauf über, sie enthalten zudem viel weniger ApoA und ApoC transportieren aber noch immer VK im lipophilen Kern. Menadion und wasserlösliche Derivate diffundieren direkt ins Blut und benötigen keine Gallensäuren für die Absorption.<sup>101</sup>

### **3.1.2.1. Aufnahme in die Leber**

CR binden an LDLR und LRP der Hepatozyten und gelangen ins Zellinnere durch rezeptormediierte Endozytose. Ihre Lipide werden wiederverpackt zu VLDL (diese enthalten ApoB100) und kehren zurück in den Blutkreislauf, wo sie ApoC und ApoE aufnehmen. Die Lipoproteinlipase LPL in den Kapillaren spaltet von den LDL die TG ab und übrig bleiben die sogenannten IDL (intermediate density lipoproteins). Mit Fortschreiten in der Blutzirkulation werden auch ApoC und ApoE wieder abgegeben und es bleiben LDL, die fast ausschließlich ApoB-100 enthalten. Es wird vermutet, dass VK noch immer im lipophilen Kern lokalisiert sein kann.

Wie VK selbst in die Hepatozyten aufgenommen wird, ist aufgrund fehlender Untersuchungen, nicht erforscht. Aufgrund vieler anderer untersuchter Faktoren wird jedoch angenommen, dass VK, eingebaut in CR transportiert wird, durch den bekannten Mechanismus der CR-Aufnahme in die Hepatozyten gelangt.<sup>101</sup>

Dort wird VK im endoplasmatischen Reticulum mittels VK-Reduktase in seine biologisch aktive Form umgewandelt, das VK-Hydrochinon (VKH<sub>2</sub>). Bei der Carboxylierung entsteht das VK – Epoxid, das durch eine Epoxid Reduktase wieder regeneriert werden kann. Diese Reaktionen finden in einem Multienzymkomplex statt.

Die zelluläre, biologische Verfügbarkeit von VK könnte durch eine unterschiedliche Clearance von CR aus der Leberzirkulation und damit verbundenen

unterschiedlichen hohen VK-Konzentrationen individuell beeinflusst werden, wie es beispielsweise aufgrund von ApoE Polymorphismen der Fall ist<sup>15</sup>, siehe auch Kapitel 3.2.1.

Was die zelluläre Aufnahme von VK betrifft, so erzielten verschiedene Studien verschiedene Ergebnisse hinsichtlich des Transports von VK in die unterschiedlichen Zielzellgewebe, einheitliche Resultate existieren nicht. Als Beispiele oft angegeben werden aber Leber- und Knochengewebe, mit unterschiedlichem Bedarf an VK, Stoffwechsel und Effizienz der VK-Aufnahme.

### **3.1.2.2. Aufnahme in die Knochenmatrix<sup>101</sup>**

LDL, aber auch CR können Lipide an Osteoblasten abgeben, die in die Oberfläche der Knochenmatrix eingebaut sind. Die Aufnahme in die Osteoblasten erfolgt über die Lipoproteinrezeptoren LDLR und LRP1, an die die CR und LDL binden, kurz darauf werden die ganzen Komplexe endozytiert und VK wird in die Osteoblasten aufgenommen. Aufgrund einer Reihe von Untersuchungen vermutet man, dass Osteoblasten das meiste VK<sub>1</sub> über die CR und das meiste MK-7 über die LDL erwerben.

Über die zelluläre Aufnahme der Lipoproteine und VK ins Knochengewebe ist wenig bekannt. Beobachtet wurde aber, dass ein Mangel an ApoE die Aufnahme von VK aus Lipoproteinen in die Osteoblasten funktionell verschlechterte, auch LRP1 soll hauptverantwortlich für die Aufnahme von CR in die Osteoblasten und damit quantitativ wichtig für die Aufnahme von Phyllochinon, in die Knochen und die posttranslationale  $\gamma$ - Carboxylierung sein.

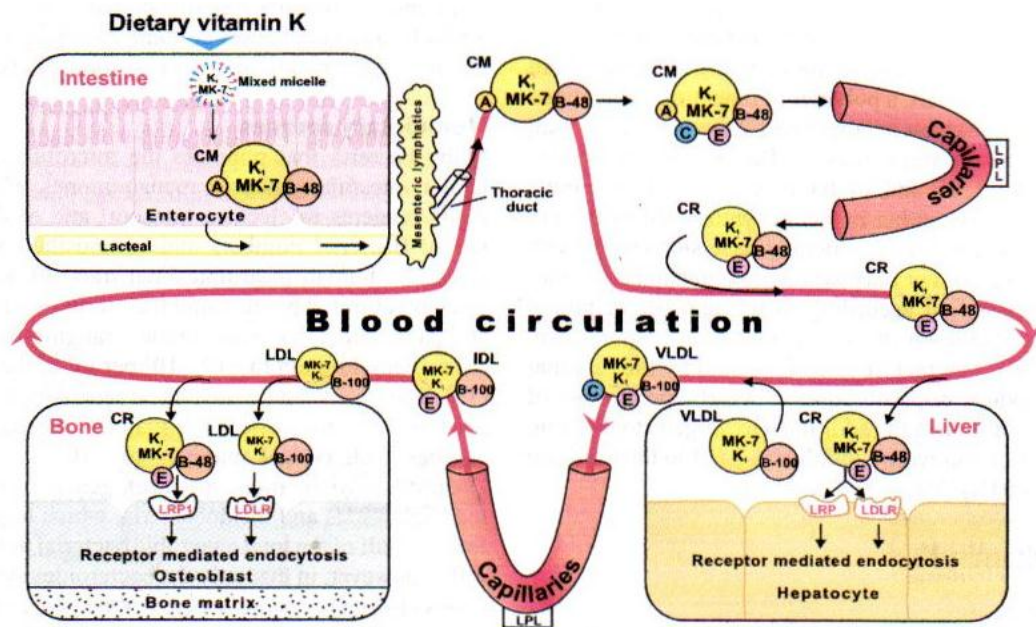
Nach Versuchen mit radioaktiv und fluor-markierten CR an Mäusen, bildete das Knochengewebe, nach der Leber, das zweitwichtigste Organ für die Aufnahme von CR aus dem Blutkreislauf. Bemerkenswert ist, dass die intravenöse Verabreichung von Phyllochinonangereicherten CR einen rapiden und signifikanten Anstieg von carboxyliertem Osteocalcin im Blutkreislauf von Mäusen zur Folge hatte, was in vivo zeigt, dass Osteoblasten die Fähigkeit besitzen, CR sehr schnell aufzunehmen und dass Phyllochinon aus diesen Transportlipoproteinen für die  $\gamma$ - glutamyl - Carboxylierung von Osteocalcin verwendet werden kann.

Die zelluläre Aufnahme von Menachinon ist kaum untersucht, aber langkettige Menachinone können lange in der LDL Fraktion im Blutkreislauf zirkulieren, vielleicht weil sie vermehrt von extrahepatischen Geweben aufgenommen werden, wie z.B. dem Knochengewebe.

#### **Vitamin K Rezeptoren**

Im Nukleus von Osteoblasten wurde ein VitaminK-bindendes Protein entdeckt, das mit größerer Affinität MK-4 zu binden scheint, als Phyllochinon, zusammen mit Antikörpern bildet es einen Immunkomplex.

MK-4 kann an PXR binden, PXR hat zwar eine Affinität an eine Vielzahl von Liganden, es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass wenige Gene nur durch MK-4 reguliert werden, nicht aber von anderen PXR- Liganden und auch nicht von Phyllochinon oder anderen Menachinonen. Diese Gene werden nicht durch carboxylierungsabhängige Prozesse gesteuert sondern vermutlich durch einen Mechanismus im Zusammenhang mit Proteinkinase A, vielleicht auch von einem anderen MK-4 spezifischen Rezeptor.



**Abb.3.1:** Schematische Darstellung von Absorption, Transport und Aufnahme von Nahrungsphylochinon (VK<sub>1</sub>) und Menachinon-7 MK-7, nach Shearer und Newman, Metabolism and cell biology of vitamin K, 2008

Die wichtigsten Transportmittel von Phylochinon im Blutkreislauf unter physiologischen Bedingungen bilden mengenmäßig die TRL (Triglyceridreichen Lipoproteine) in Form von CM und VLDL, trotz der viel geringeren Konzentrationen an LDL und HDL ist aber anzunehmen, dass auch sie wichtige Funktionen im Phylochinontransport übernehmen.

Was die Kinetik betrifft, erreichen die Phylochinon-Plasmakonzentrationen 6-9 Stunden nach Nahrungsaufnahme ihren Höhepunkt und normalisieren sich nach 24 Stunden. Anders bei intravenöser Verabreichung eines emulgierten VK<sub>1</sub>-Präparates, kann die Abbaurate in zwei Phasen unterteilt werden: eine schnelle (rapide) Phase mit einer Halbwertszeit von 0,3h und einer langsameren Phase mit einer Halbwertszeit von ca. 2,5h. Es wird vermutet, dass es mehrere, verschiedene Körperspeicher für VK gibt, mit unterschiedlich hohen turnover-Raten, nach physiologischer, oraler Aufnahme werden langsame turnover-Speicherorte vermutet,

wie z.B. Knochen- und Fettgewebe. Für intravenös „aufgenommenes“ VK werden andere, schnelle Speicherorte angenommen, welche, das ist nicht bekannt. Es konnte aber gezeigt werden, dass nach der Gabe von intravenösem VK<sub>1</sub> eine ganz andere Lipoproteinverteilung von Phyllochinon im Plasma erfolgt und nicht mittels Lipoproteinen für Nahrungsphyllochinon transportiert und zum Zielort gebracht wird. Auch intramuskuläres Vitamin K<sub>1</sub> (5mg) wurde nicht in TRL transportiert, sondern hauptsächlich in LDL 49% und HDL 36%. Zum Vergleich: physiologischer Transportweg von oral aufgenommenen VK<sub>1</sub>: in TRL zwischen 91 und 70%, in LDL zwischen 3 und 14%, in HDL zwischen 4 und 11%, es wurden in den Messungen nie mehr als 17, 18% des Phyllochinons in die LDL, bzw. HDL Fraktionen eingebaut (zwischen 8 und 24h). Die hohe pharmakologische Dosis und der Haupttransport über HDL und LDL deuten vermutlich auf die Abgabe aus dem Muskel zum Abbau in der Leber und die darauffolgende Ausscheidung. Für die Applikationsart der VKP ist die Frage nach den Konsequenzen der unterschiedlichen Abbauraten, Transportwege und Speicherorte auf den neonatalen Organismus von besonderem Interesse.

### **3.1.2.3. Menachinontransport und -kinetik**

Die MK-4 (über die Nahrung aufgenommen) Konzentration im Plasma zeigte sich immer niedriger als die von Phyllochinon, verteilte sich aber beinahe genauso zwischen TRL, LDL und HDL, wie Phyllochinon. Allerdings erfolgte der Transport aus dem Blut sehr schnell, und das restliche MK-4 nach etwa 8h fand sich zu 80% in der LDL – Fraktion.

MK-9 hatte die niedrigste aller Serumkonzentrationen in den ersten 6h, es wurde hauptsächlich in TRL transportiert, 8h nach Nahrungsaufnahme überwiegend in der LDL- Fraktion gemessen und verschwand innerhalb von 48h. In HDL konnte MK-9 nicht gefunden werden.

Warum MK-4 und MK-9 in so niedrigen Serumkonzentrationen gemessen wurde bleibt unklar, obwohl einige Forscher der Meinung sind, dass diese auf eine schnellere Aufnahme in die Zielgewebe zurückzuführen sei, im Vergleich zu Phyllochinon.

MK-7 zirkulierte bis zu 96h nach der Nahrungsaufnahme im Blut, die Verteilung auf die Lipoproteinfraktionen wurde nicht ermittelt, aber übereinstimmend mit MK-9 wird MK-7 später in LDL transportiert.

### 3.1.3 Speicherung<sup>101</sup>

Die Leber ist der Syntheseort der VK-abhängigen Blutgerinnungsfaktoren und wurde ursprünglich als der größte Speicherort für VK betrachtet, der VK-Gehalt der Leber ist aber breit gestreut und variiert sehr stark von Mensch zu Mensch, und wird durchschnittlich auf 200-300nmol geschätzt. Das Verhältnis der gespeicherten VK-Formen in der Leber beträgt ca. 10% Phyllochinone und 90% langkettige Menachinone, von MK-7 bis MK-13. Einen beträchtlichen Teil davon bilden die MK-10, 11 und 12, die nur sehr gering in der Nahrung enthalten sind, aber vorwiegend von anaeroben *Bacteroides* im Dickdarm produziert werden.

γ-Carboxyglutaminsäure (kurz Gla) -haltige Proteine kommen nicht nur in der Leber sondern in vielen anderen extrahepatischen Geweben vor, unklar ist aber, wie das VK auf diese Gewebe verteilt wird.

Gemessen werden konnten mit dem Leberspeicher vergleichbare, bzw. höhere Konzentrationen an Phyllochinon in Herz und Pankreas. Geringe Konzentrationen an Phyllochinon konnten in Gehirn, Nieren und Lunge nachgewiesen werden. Besonders hohe Konzentrationen an MK-4 ließen sich in Gehirn, Nieren und Pankreas messen (10-20mal höher als Phyllochinon). MK-4 konnte in phyllochinonähnlichen Konzentrationen in vielen extrahepatischen Geweben nachgewiesen werden, weniger aber in Herz und Lunge. Daten von potentiell großen VK-Speichern, wie z.B. Fettgewebe und Haut fehlen. In Knochen konnte in wenigen Untersuchungen überwiegend Phyllochinon und weniger MK-4 bis MK-8 nachgewiesen werden.

Doch woher stammt das MK-4? Über die Nahrung wird es in sehr geringen Mengen aufgenommen, von Darmbakterien kaum synthetisiert. Es wird angenommen, dass Phyllochinon im Körper in MK-4 umgewandelt wird, unabhängig von den Darmbakterien (im Versuch mit keimfreien Ratten). In einem anderen Versuch wurde Ratten nach VK-freier Diät Nahrungsphyllochinon gefüttert, woraufhin sich die geleerten Phyllochinon- und MK-4- Gewebespeicher wieder füllten.

In welchen Zellen die Umwandlung erfolgt, ist nicht eindeutig zu sagen, dazu liegen kaum Ergebnisse vor, von Nieren und Gehirn sind einige Daten publiziert.

Am widersprüchlichsten sind die Untersuchungsergebnisse bezüglich der Abhängigkeit von der Art der Gabe, einerseits wurde eine MK-4 Synthese nach intravenöser Gabe von Phyllochinon gemessen, andererseits konnte keine



Umwandlung in MK-4 nach intravenöser oder parenteraler Verabreichung festgestellt werden.

Für den biochemischen Mechanismus der Umwandlung von Phyllochinon in MK-4 kommen zwei Wege näher in Betracht: entweder die komplette Entfernung der Phytylseitenkette und anschließende Prenylierung des Menadions oder die Desaturierung der Phytylseitenkette.

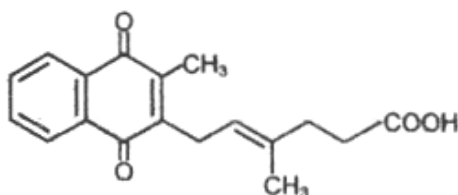
### 3.1.4 Abbau und Ausscheidung<sup>101</sup>

Der Abbau und die Ausscheidung von Phyllochinon aus dem Körper sind hoch und könnten ein Beleg dafür sein, dass es in relativ niedrigen Speichern und kleinen Mengen in der Blutzirkulation vorkommt, im Vergleich zu Vitamin A, D und E. Es wird geschätzt, dass ca. 50% des Nahrungsphyllochinons glucuroniert und über die Gallenflüssigkeit mit dem Stuhl und ca. 20% in wasserlöslicher Form über den Urin ausgeschieden wird.

Über Abbau und Ausscheidung von Menachinon im Menschen ist wenig bekannt, die meisten Ergebnisse konnten an Ratten beobachtet werden, so auch, dass der Abbau von MK-4 aus der Leber wesentlich schneller abläuft (nach 12h wurden 74,1% des MK-4 in der Galle gemessen) als der von Phyllochinon (8,5% nach 12h). Es wurden jedoch keine messbaren Unterschiede in der Verteilung von MK-4 und Phyllochinon in den Organen festgestellt (nach 24h). Im Vergleich zu Phyllochinon wird MK-4 in viel geringerem Umfang in die Leber retentiert, und in größeren Mengen abgebaut und ausgeschieden.

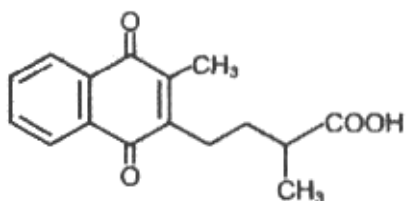
2 VK-Metaboliten konnten in humanem Urin identifiziert werden:

2-Methyl-3-(5'-Carboxy-3'-Methyl-2'-pentenyl)-1,4-Naphthochinon, eine Carbonsäure, mit einer gekürzten Seitenkette von nunmehr 7 C-Atomen, die DB in der Seitenkette beibehalten



**Abb. 3.2** ungesättigtes 2-Methyl-3-1,4-Naphthochinon

und 2-Methyl-3-(3'-Carboxy-3'-Methyl propyl) -1,4 Naphthochinon, eine Carbonsäure mit einer ebenfalls gekürzten Seitenkette, aber *gesättigt* mit einer Länge von 5 C-Atomen



**Abb. 3.3** gesättigtes 2-Methyl-3-1,4-Naphthochinon

Auch nach der Aufnahme von MK-4 und MK-7 Supplementen von freiwilligen Versuchspersonen stieg die Konzentration der beiden Ausscheidungsprodukte in gleicher Weise, wie nach Phyllochinonsupplementation. Auch die Aufnahme von Menadion führte zu den gleichen Stoffwechselendprodukten, dies könnte durch die Umwandlung von Menadion in MK-4 erklärt werden, wonach die Zerlegung der Seitenkette erfolgt. Diese beiden Metaboliten im Urin, die sowohl den Menachinonen, also auch den Phyllochinonen gemeinsam sind, könnten repräsentativ für Stoffwechsel und alle Körperspeicher von VK und durch die Abhängigkeit von der (Nahrungs-)Aufnahme geeignete Marker von VK-Aufnahme und Status sein.

In struktureller Analogie zu ähnlichen isoprenoiden Verbindungen, wie Vitamin E und Ubichinon wird vermutet, dass der Abbau der Seitenkette des Phyllochinons, wie auch der von Fettsäuren, Steroiden und Prostaglandinen mittels  $\omega$ -Hydroxylierung und  $\beta$ -Oxidation erfolgt. Die Leber dürfte das zentrale Organ im Abbau von Phyllochinon sein. In den Mitochondrien und im Endoplasmatischen Reticulum (ER) der Hepatocyten wurden größere Mengen VK gefunden, daher nimmt man an, dass die  $\beta$ -Oxidation der Seitenkette der K-Vitamere wahrscheinlich in den Mitochondrien und die  $\omega$ -Hydroxylierung im ER erfolgt.

Die VK-abhängige Carboxylierung findet in vielen Zelltypen und -geweben statt, daher stellt sich die Frage, wie der Abbauweg zu den Carbonsäuremetaboliten außerhalb der Leber ablaufen kann. Es konnte zwar beobachtet werden, dass Fibroblasten in Bindegewebszellkulturen Phyllochinon sehr schnell metabolisieren konnten, die daraus entstandenen polaren Metaboliten wurden jedoch strukturell nicht geklärt. Nach wie vor wird angenommen, dass die Konjugatbildung der Phase II mit Glucuronsäure in der Leber stattfindet, obwohl die Glucuronierung von

Xenobiotika auch bereits in der intestinalen Mukosa und den Nieren nachgewiesen werden konnte.

Der enzymatische Abbau von K-Vitaminen wurde im Detail nicht untersucht, aber Untersuchungen von strukturell ähnlichen Verbindungen geben Grund zur Annahme, dass die K-Vitamine von Monooxygenasen, den Cytochrom P450 – Enzymen CYP, enzymatisch  $\omega$ -hydroxyliert werden. Speziell die Isoform CYP3A4 spielt im Metabolismus höherer Konzentrationen von Vitamin E und K eine Rolle, weil beide Vitamine durch Binden und Aktivieren vom Steroid- und Fremdstoffrezeptor SXR (auch als PXR bekannt, pregnane X Rezeptor) die Isoform CYP3A regulieren.

Die Induktion von CYP3A durch das Substrat selbst könnte ein Mechanismus für die Regulation der Ausscheidung von überschüssigen K-Vitaminen sein, ein Beispiel dafür ist die Einnahme von Antikonvulsiva wie Phenytoin und Carbamazepin in der Schwangerschaft, die durch Aktivieren der CYP und damit verbundene Interaktion mit dem VK-Metabolismus einen Vitamin K Mangel beim Neugeborenen hervorrufen, beim Erwachsenen konnte diese Beobachtung jedoch nicht gemacht werden.

### **3.2 Funktionen**

VK ist mehr als das Vitamin der Blutgerinnung, seine bestuntersuchte Funktion in menschlichen und tierischen Organismen ist generell die als Coenzym in der  $\gamma$ -Carboxylierung von Glutamylresten in Proteinen, von denen nur ein Teil Blutgerinnungsproteine sind, wie die Faktoren II, VII, IX, X und Protein C, Z und S die Proteine der Hämostase werden in der Leber synthetisiert. Die posttranslationale Aktivierung VK-abhängiger Proteine (VKD Vitamin K dependend proteins) erfolgt mittels der ebenfalls VK-abhängigen Carboxylase. Es gibt noch weitere, VKD-Proteine, d.h. Gla-Proteine, die in den Calcifizierungsprozess eingebunden sind ( $\text{Ca}^{2+}$ -transportierende Proteine) und diesen vermutlich regulieren. Hierzu zählen Osteocalzin OC, Matrix Gla Protein MGP aber auch Protein S im Knochen, Dentin Gla Protein DGP, unter pathologischen Bedingungen Atherocalzin in arteriosklerotischer Plaque in Gefäßen und renales Ga Protein (vielleicht aufgrund von Störungen in  $\text{Ca}^{2+}$ -Ausscheidung od. Transport in Nierensteinen zu finden?). Zu den extrahepatischen VKD-Proteinen zählen auch das Gla-rich Protein, Growth Arrest Specific Gene 6 (Gas6) und Ovocalzin aber auch erst in den letzten Jahren entdeckte, wie PRGP1 und

PRGP2 (prolinreiches Gla Protein 1 und 2), transmembrane Gla-proteine TGM3 und TGM4, Periostin und Periostin-like- Faktor PLF, deren Funktionen noch weitgehend unerforscht sind.<sup>15, 38, 77, 116</sup> Es ist anzunehmen, dass noch weitere VK-abhängige Proteine existieren. Die Vitamin K- abhängige  $\gamma$ -Carboxylierung wurde bereits in Insekten (*Drosophila*) nachgewiesen und es dürfte sich daher um einen sehr alten, verbreiteten Mechanismus handeln.

Es wurden jedoch auch einige Eigenschaften des VK festgestellt, die unabhängig von seiner Funktion als Cofaktor in der  $\gamma$ -Carboxylierung sein dürften. In einigen Untersuchungen steht die Bedeutung von VK als Radikalfänger im Mittelpunkt, VK konnte die Lipidperoxidation in einer Rattenleber unterdrücken und zeigte in Oligodendrocyten antioxidative Eigenschaften<sup>76</sup> (siehe Kapitel 1.3). Die Mechanismen sind nicht bekannt, dürfte aber zumindest unabhängig von der Funktion des VK als Cofaktor in der  $\gamma$ -Carboxylierung sein.

Einige wenige Untersuchungen zeigten einen inversen Zusammenhang zwischen VK und Entzündungsgeschehen. In Zellkulturen gaben Fibroblasten, die mit Lipopolysacchariden (LPS) behandelt wurden, Interleukin IL-6 ab, reduziert werden konnte diese Abgabe durch vorangegangene Behandlung mit Vitamin K. Auch in einem Tierversuch mit Ratten wurde diese Beobachtung gemacht, Ratten mit VK Mangel zeigten eine erhöhte Reaktion von Genen, die an einer akuten Entzündungsantwort beteiligt sind (ebenfalls durch LPS induziert), umgekehrt konnte eine VK reiche Diät die Entzündungsantwort dämpfen. Am Menschen konnte kein Zusammenhang zwischen Status und Aufnahme von Vitamin K und D und proinflammatorischen Biomarkern festgestellt werden, allerdings handelte es sich dabei um eine korrelative Kohortenstudie.<sup>101</sup>

VK ist auch an der Synthese von Sphingolipiden beteiligt, die in hohen Konzentrationen im Gehirn enthalten sind. VK dürfte für den Aufbau von Ceramiden essentiell sein. *Bacteroides melaninogenicus* reagierten im Nährmedium ohne VK mit defekten Zellhüllen, durch eine Reduktion der Aktivität der 3-Ketodihydrosphingosin-synthase (das erste Enzym in der Sphingolipidbiosynthese), das gleiche Enzym, das in den Mikrosomen junger Mäuse nach Behandlung mit Warfarin aufgebraucht war. Ein anderes Enzym des Gehirns, die Galactocerebrosid Sulfotransferase dürfte ebenfalls empfindlich auf VK Mangel reagieren und kann auch durch Phyllochinon oder MK-4 wieder reaktiviert werden. Wobei vermutlich MK-4 für die Strukturlipide von größerer Bedeutung sind, da es am meisten

konzentriert in den Gehirnregionen lokalisiert ist, wo auch große Mengen von Sphingolipiden vorkommen. Die Mechanismen, wie VK die Enzyme beeinflusst sind unbekannt, aber VK ist ein wichtiger Faktor im menschlichen Gehirn und bedeutend für die Biosynthese von Lipiden myelinisierter Zellen.<sup>101</sup>

### 3.2.1 Biochemischer Mechanismus der **Aktivierung der Blutgerinnungsfaktoren:**

Im rauen endoplasmatischen Reticulum der Hepatozyten wird VK reduziert, das nun aktivierte VKH<sub>2</sub> (Vitamin K Hydrochinon) ist essentieller Cofaktor der  $\gamma$ -Glutamylcarboxylase, des Enzyms, das die Carboxylierung des Glutamats zum  $\gamma$ -Carboxyglutamat Gla katalysiert. Dabei wird das VKH<sub>2</sub> zum VK-2,3-Epoxid oxidiert. Das  $\gamma$ -Carboxyglutamat Gla ist (als AS) ein Bestandteil der Gerinnungsfaktoren (Proteine) II, VII, IX, X. Die Gla-Reste befinden sich in besonderen Proteindomänen, die durch die Bildung des Carboxyglutamats eine starke Affinität zu Ca<sup>2+</sup> - Ionen entwickeln, diese binden und dadurch die betreffenden Gerinnungsfaktoren mit Phospholipiden auf der Oberfläche von Plasmamembranen verknüpfen. Erst durch die Carboxylierung wird den Gerinnungsfaktoren ermöglicht, die für den Gerinnungsvorgang notwendigen Ca<sup>2+</sup> Ionen und Phospholipide zu binden. Damit die  $\gamma$ -Carboxylierung vollständig abgeschlossen ist, muss das VK-2,3-Epoxid kontinuierlich in seine hydroxylierte Form VKH<sub>2</sub> reduziert bzw. regeneriert werden um als Cofaktor wieder zur Verfügung zu stehen. Nach der Carboxylierung werden die Proteine aus dem endoplasmatischen Reticulum sezerniert. Auch unvollständig carboxylierte Proteine, also untercarboxylierte Formen von z.B. Prothrombin und Osteocalzin werden sezerniert. Was das Vorhandensein von untercarboxylierten Proteinen physiologisch für den Organismus bedeutet, ist noch nicht abzuschätzen.

Die Blutgerinnung befindet sich in einem homöostatischen steady state und benötigt Kontrollmechanismen. Im Plasma befinden sich für die Hemmung Proteaseinhibitoren, wie Antithrombin, Thrombomodulin, Protein C (von Thrombin aktiviert) und Protein S (Cofaktor von Protein C). Die VKD-Proteine C und S werden wie die Gerinnungsfaktoren durch Carboxylierung von Glu aktiviert. Dementsprechend führt ein VK-Mangel auch zu einem Mangel an den Proteinen C und S. Besteht ein VK-Mangel, kann die Carboxylierung nicht stattfinden und die Gerinnungsproteine, aber auch ihre Inhibitoren, sind als inaktive Vorstufen im peripheren Blut enthalten, können als sogenannte PIVKA (proteins induced by

vitamin K absence or antagonists) – Werte bestimmt werden und werden als Marker für einen VK Mangel herangezogen, es werden aber auch Rückschlüsse gezogen, ob in der Leber eine ausreichende Synthese von Blutgerinnungsvorstufen erfolgt.

Vitamin K- Antagonisten, wie z.B. Cumarine führen zu einem fast vollständigen Funktionsverlust der VK-abhängigen Proteine. Therapeutisch wird dieser Effekt zur Senkung/Verhinderung von Thrombosen genutzt, in dem die Kaskade der Blutgerinnungsfaktoren gehemmt wird. Die  $\gamma$ -Carboxylierung der VKD-Proteine findet außer in der Leber auch extrahepatisch in den Osteoblasten statt und ist vermutlich auch in anderen Geweben wahrscheinlich, da sowohl Carboxylasen als auch VK-abhängige Protein in vielen anderen Geweben nachgewiesen werden konnten. Die Verteilung von Phyllochinon und Menachinonen in den Geweben geben einen Hinweis auf ihre Bedeutung in verschiedenen Organen. MK-4 ist das am meisten vorhandene VK in mehreren Organen, wie z.B. Pankreas, wo beobachtet wurde, dass seine azinösen Zellen MK-4 nach Stimulation mit CCK8 Sekretin sezernierten. MK-4 dürfte eine Funktion in den exokrinen pankreatischen Zellen haben, hier scheint die hohe Gewebskonzentration von MK-4 unabhängig von Carboxylierungsreaktionen zu sein, diese wurden am höchsten in den Glukagon sezernierenden  $\alpha$ -Zellen gemessen.<sup>101</sup>

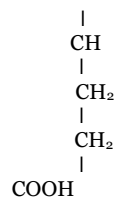
**Vorstufen der Gerinnungsfaktoren (PIVKA)**

II Prothrombin  
VII Proconvertin  
IX Christmas Faktor  
X Stuart Prower Faktor

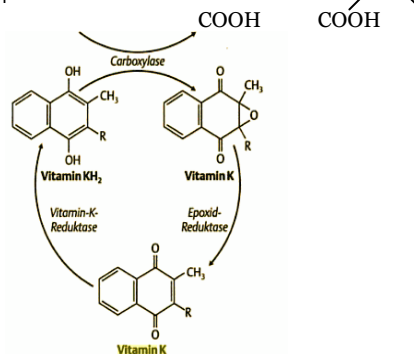
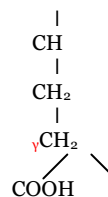
**Carboxylierte (aktive) Gerinnungsfaktoren**

IIa Thrombin  
VIIa aktiviertes Proconvertin  
IXa aktivierter Christmas Faktor  
Xa aktivierter Stuart Prower Faktor

**Glu – Peptid**



**Gla - Peptid**



**Abb.3.4** Umwandlungsformen des Vitamin K (Vitamin K Zyklus) bei der  $\gamma$ -Carboxylierung der Vorstufen der Gerinnungsfaktoren, nach BIESALSKI et al. 1995, tw. modifiziert

Vermutlich haben die VK abhängigen Blutgerinnungsfaktoren auch einen Einfluss auf die Expression von Wachstumsfaktoren im Knochengewebe. Faktor VIIa (aktiviertes Proconvertin) und Faktor X (Stuart Prower Faktor) stimulieren die Expression des humanen cysteinreichen Protein61 (hCYR61) und den connective Tissue Growth Factor (CTGF) der CCN-Gene, die Zellwachstum und –differenzierung modulieren. Das hCYR61 wird von 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxycholecalciferol und Wachstumsfaktoren in fötalen Osteoblasten reguliert und fungiert wahrscheinlich als extrazellulärer Signalgeber im menschlichen Knochen. Das CYR61 von Mäusen moduliert u.a. den Fibroblast Growth Factor und die Angiogenese.<sup>75</sup>

VK ist auch in der **Knochenmineralisation** funktionell von Bedeutung, da Gla auch im **Osteocalcin OC** enthalten ist, das in den Osteoblasten synthetisiert wird und ca. 2% des Gesamtproteingehaltes der Knochen ausmacht. Das Osteocalcin (**Bone Gla protein, BGP**) wird von reifen Osteoblasten in die extrazelluläre Matrix abgegeben, ein Teil ist im Serum als Knochenmarker für Abbauprozesse immunologisch messbar. Man findet es bei gesteigertem Knochenumsatz (z.B. Osteoporose), erhöhter Umbaurate und in schnell wachsenden Knochenabschnitten, ist aber generell ein Marker für abbauende Prozesse im Knochengewebe. Osteocalcin besitzt eine hohe Affinität zu Apatit und ist so vermutlich für die kristalline Abscheidung des Calciumphosphats als Apatit im Knochengewebe mitverantwortlich. Der Wirkungsmechanismus ist nicht bekannt.<sup>101, 38</sup>

UcOC ist verbunden mit vermehrter Ausscheidung von Calcium und Hydroxyprolin im Urin, durch VK-Supplementierung bei Frauen nach der Menopause<sup>14</sup> ließ sich dieser Effekt nicht mehr beobachten. Außerdem zeigten hohe ucOC Konzentrationen im Plasma starke Korrelationen zu erhöhtem Frakturrisiko und niedriger Knochendichte.<sup>116</sup>

Möglicherweise ist eine gestörte Knochenmineralisation beim Erwachsenen aufgrund eines Vitamin K Mangels nicht auszuschließen, epidemiologische Untersuchungen kamen jedoch zum Schluss, dass die Frakturinidenz, nicht aber die Knochendichte mit einer erniedrigten VK-Aufnahme korreliert<sup>16, 43</sup>, Interventionsstudien dazu lieferten widersprüchliche Ergebnisse<sup>116</sup>. VK alleine kann im Tierversuch Knochenverlust nicht vermindern, die Kombination mit Vitamin D<sub>3</sub> experimentell schon, wobei MK-4 wesentlich wirksamer ist als Phyllochinon.<sup>15</sup>

Welche Bedeutung haben Polymorphismen auf Knochendichte und Frakturinidenz, könnten diese als genetische Marker zur Einschätzung von Osteoporose

herangezogen werden? Drei verschiedene ApoE Genotypen konnten klassifiziert werden, wobei Individuen mit ApoE\*A2 Allelen die höchsten Phyllochinonkonzentrationen aufwiesen, mittlere mit A3 Allelen und die niedrigsten mit A4 Allelen. Und obwohl Individuen mit A4 Allelen in anderen Studien die schnellste Clearance von CR aus dem Blutkreislauf in die Leber, ein höheres Frakturrisiko und eine niedrigere Knochendichte hatten, konnten BOOTH et al. in ihrer Kohortenstudie keinen Zusammenhang zwischen Allelstatus und Knochendichte feststellen (der VK Status wurde mittels Food Frequency Questionnaire FFQ ermittelt).<sup>15</sup> In einer aktuellen Metaanalyse von PETER et al.<sup>88</sup> wird ein mit verringerter Knochendichte und Frakturinzidenz assoziierter ApoE Polymorphismus ausgeschlossen.

Ein CA repeat Polymorphismus am humanen MGP Locus konnte in 6 unterschiedlichen genetischen Ausprägungen nachgewiesen werden, könnte verantwortlich sein für individuelle Unterschiede in Funktion und Expression von MGP und zeigte einen signifikanten Zusammenhang zu Knochendichtefaktoren bei älteren Frauen in Japan<sup>113</sup>.

Epigenetische Variabilitäten sind auch bei anderen VK-abhängigen, bzw. am VK-Stoffwechsel beteiligten Faktoren nicht auszuschließen, aber selbst nach Identifikation muss überhaupt deren Einfluss auf den VK Metabolismus erst abgeklärt werden.

**Matrix Gla Protein (MGP)** ist ein Protein, dessen mRNA-Transkription mittels Vitamin D<sub>3</sub> und zyklischem AMP stimuliert und das ebenfalls mittels  $\gamma$ -Carboxylierung VK-abhängig aktiviert und von Osteoblasten sezerniert wird, und das in verschiedenen Körpergeweben vorkommt, beispielsweise in Herz, Niere und Lunge, akkumuliert jedoch nur in Knorpel und Knochen. Es wird z.B. in der Wachstumszone (Epiphysenfuge) der langen Röhrenknochen während der endochondralen Ossifikation exprimiert und beeinflusst Vitamin D-abhängig die Calcifizierung, bzw. Mineralisation abhängig von Entwicklung und Differenzierungsstadium der Zellen.<sup>15,10</sup> MGP ist ein wichtiger Inhibitor der Calcifikation von Knochen- und Knorpelgewebe und bemerkenswerterweise von Gefäßwänden von glatten Gefäßmuskelzellen, und wird vermutlich vor Ort produziert und sezerniert.

Knockoutmäuse ohne Genexpression des MGP entwickelten innerhalb weniger Monate eine schwere Verkalkung großer arterieller Gefäße und verstarben häufig an



einer Ruptur dieser Gefäße. Die geringe Anzahl der überlebenden Versuchstiere wies eine Verkalkung des Knorpels, der Wachstumsfugen der Knochen, Osteopenie und Frakturen auf. Ebenfalls im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass bei VK-Mangel, die Calcium- und Vitamin D<sub>3</sub> Supplementierung die Calcifizierung von Gefäßen fördern kann, da die Inhibierung durch MPG nicht ausreichend stattfindet.<sup>14</sup> Eine Therapie mit dem plazentagängigen Vitamin K – Antagonisten, wie Warfarin in der Schwangerschaft führt beim humanen Fötus zur Calcifizierung von Knorpelgewebe, Hypoplasie der Nase, Fehlbildungen des ZNS (Mikrozephalie und Entwicklungsstörungen) und der Augen, teilweise zu Blutungen etc. Auch Antikoagulationspatienten entwickelten ausgedehnte Verkalkungen an Arterien und Herzgefäßen, die bei gleichzeitiger Verabreichung hoher Dosen VK verhindert werden konnte<sup>116, 72</sup>.

In arteriellen Gefäßwänden gibt es Hinweise darauf, dass biologisch aktives, carboxyliertes MGP direkt von vaskulären Muskelzellen gebildet wird, als potenter Inhibitor der Calcifizierung fungiert und es keinen effektiven alternativen Mechanismus dafür zu geben scheint. So wie die anderen Gla Proteine ist MGP durch einen hohen Gehalt an Glutamatresten (5) gekennzeichnet, die mittels VK als Cofaktor carboxyliert werden können, der Mechanismus ist bereits bekannt. Bei ausreichender Verfügbarkeit von VK kann MGP carboxyliert werden und wird dadurch befähigt Ca<sup>2+</sup> zu binden und Calciumablagerung vermutlich zu verhindern, denn nicht ausreichend carboxyliertes MGP, d.h. ucMGP kann an Orten der atherosklerotischer Plaque immunhistologisch nachgewiesen werden und wird bereits als Biomarker im Serum für kardiovaskuläre Calcifizierung und damit für die Risikoeinschätzung von kardiovaskulären Erkrankungen CVD diskutiert<sup>99, 72</sup>. Aus diesem Blickwinkel ist eine optimale VK Versorgung wirkungsvoll, um Gefäßverkalkung so gering wie möglich zu halten. Dabei spielt offensichtlich die Form des (über die Nahrung) aufgenommenen Vitamin K eine entscheidende Rolle, während VK<sub>1</sub> keinen Effekt auf kardiovaskuläre Gesundheit zeigte, konnte dies für eine hohe Menachinonaufnahme (VK<sub>2</sub>) in mehreren Studien nachgewiesen werden.<sup>99</sup>

<sup>116</sup> KULLICH et al. untersuchten in einer randomisierten klinischen Studie den Zusammenhang bei bestehendem atherosklerotischem Risiko (in Form von Hyperlipoproteinämie) zwischen Lebensstil bzw. Ernährungsgewohnheiten und MGP und den Einfluss von Bewegungstherapie und Diät auf die MGP-Spiegel. Hyperlipidämiepatienten (n=66) zeigten im Vergleich zur fettstoffwechselgesunden

Kontrollgruppe (n=20) signifikant höhere MGP Werte, Raucher 3mal so häufig. Eine Datenanalyse zur Korrelationserfassung zeigte, dass MGP im Serum mit Gesamtcholesterin, LDL und TG korreliert, es konnte jedoch kein inverser Zusammenhang von hohem MGP mit HDL nachgewiesen werden. Nach einer Erfassung der Lebens- und Ernährungsgewohnheiten zeigte sich, dass Patienten mit regelmäßigem Obstkonsum fast ausschließlich niedriges MGP aufwiesen. Dieser Zusammenhang dürfte wohl kaum auf den VK Gehalt der Früchte zurückgeführt werden können, da sie nur wenig davon enthalten, und dieses ausschließlich in Form von Phyllochinon, während vermehrter Gemüsekonsum keine messbaren Auswirkungen zeigte. Bereits 3 Wochen Ernährungs- und Bewegungstherapie führte zu einem leichten Rückgang der MGP-Spiegel<sup>73</sup>.

Verschiedene Faktoren, einschließlich MGP, regulieren sowohl die Mineralisation im Knochen als auch in den Blutgefäßen und dürften u.a. für Störungen in der Gewebecalcifikation bei Osteoporose und Atherosklerose verantwortlich sein, wobei Vitamin K und Vitamin D besonders wichtige Funktionen in den Mechanismen übernehmen.

VK ist darüber hinaus an der  $\gamma$ -Carboxylierung des sogenannten **Growth-Arrest-Specific-Gene-6 (Gas6)** beteiligt. Dieser bindet an verschiedene Rezeptor-Tyrosin-Kinasen, beeinflusst damit Zellproliferation und Replikation, reguliert vermutlich weiters die angeborene Immunantwort und Mechanismen im Entzündungsgeschehen und spielt möglicherweise eine Rolle in der Entstehung von Thrombosen<sup>15, 55</sup>. Gas6 Konzentrationen sind im menschlichen Plasma 20 mal höher als in Thrombozyten, was ein Hinweis auf die bedeutende Rolle des Aktivierungsweges von Gas6 (über TAM Rezeptoren Tyro3, Axl und Mer) zur Induktion der Thrombozytenaggregation sein könnte, Störungen der humanen Gas6 Aktivierung (im Tierversuch bestätigt) führte zu Aggregationsstörungen und Thrombosen.<sup>24</sup>

Gas6 und Axl werden gehäuft in malignen Krebszellen exprimiert, so auch in Krebszellen des Pankreas, es konnte gezeigt werden, dass Axl die Ausbreitung und Lebensdauer der malignen pankreatischen Krebszellen fördert<sup>103</sup>, und Tyro3 und Axl Rezeptoren in malignen Schilddrüsentumorzellen signifikant überexprimiert und aktiviert werden<sup>9</sup>.

Eine Fall Kontrollstudie mit n= 233 CA Patienten sollte nach Analyse der Genetik die Zusammenhänge zwischen SNPs in Gas6/TAM Genen und Atherosklerose der Carotis untersuchen, die Kontrollgruppe bildeten n= 202 Patienten mit nicht atherogenem

Schlaganfall. Die Analysen ergaben einen signifikanten Zusammenhang zwischen Schlaganfall mit Tyro3 und Mer, nicht aber mit Axl oder Gas6. Es dürften die Gas6-TAM Reaktionswege selbst eine relevante Rolle in der Atherogenese spielen.<sup>55</sup>

Weitere VK-abhängige Proteine sind **RGP1** und **RGP2 (prolinreiches Gla Protein 1 und 2)** sie spielen in der Signaltransduktion möglicherweise eine Rolle und **Protein Z**. Protein Z ist ein Cofaktor des Protein Z Inhibitors (ZPI) in der Hemmung vom aktiviertem, an Phospholipide gebundenem Faktor X. Die Plasmakonzentration an Protein Z wird vermutlich genetisch reguliert, da Polymorphismen die Plasmakonzentration beeinflussen. Seine Funktion als Antithrombotikum bzw. Antikoagulans ist wahrscheinlich. Eine niedrige Protein Z Konzentration, bzw. ein Protein Z Mangel stehen laut einer aktuellen Metaanalyse von 28 Fall – Kontrollstudien in Zusammenhang mit Auftreten von (arteriellen) Thrombosen, Schwangerschaftskomplikationen und venösen Thromboembolien<sup>102</sup>

VK ist zudem an der  $\gamma$ -Carboxylierung **renalier Gla-Proteine** und **Atherocalzin** beteiligt. Letzteres spielt vermutlich in der Atheroskleroseentstehung eine Rolle und das renale Gla-Protein steht im Zusammenhang mit dem renalen Calciumstoffwechsel. Ein Gla-Protein konnte auch in menschlichen Nierensteinen (Phosphat- und Oxalatsteinen) entdeckt werden<sup>38</sup>.

### 3.3 Vorkommen und Bedarf

#### 3.3.1. Schätzwerte für eine angemessene Zufuhr

Der tägliche Bedarf des Menschen kann noch nicht mit der wünschenswerten Genauigkeit bestimmt werden, er wird gegenwärtig von der DGE mit ca. 1 (0,03-1,5)  $\mu\text{gVK/kg}$  Körpergewicht **geschätzt**. Die angegebenen Werte wurden, wie Schätzwerte generell üblich, aus dem Verzehr gesunder, adäquat ernährter Personengruppen abgeleitet, experimentell sind die Angaben zum Bedarf des Menschen nicht gestützt, d.h. aussagekräftige Untersuchungen fehlen, dennoch geben sie nach DGE Richtlinien gute Hinweise auf eine angemessene unbedenkliche Zufuhr<sup>25</sup>. Die täglich empfohlene Zufuhr für Erwachsene, Schwangere und Stillende beträgt 60-80  $\mu\text{g}$ , für Säuglinge unter 4 Monaten 4  $\mu\text{g}$ , für Säuglinge zwischen 4 und 12 Monaten 10  $\mu\text{g}$ . Die Zufuhr für Kinder wird körperlengewichtsangepasst interpoliert, siehe Tabelle unten.

## Vitamin K

### A. Schätzwerte für eine angemessene Zufuhr

| Alter                             | Vitamin K<br>µg/Tag |    |
|-----------------------------------|---------------------|----|
|                                   | m                   | w  |
| <b>Säuglinge</b>                  |                     |    |
| 0 bis unter 4 Monate              |                     | 4  |
| 4 bis unter 12 Monate             |                     | 10 |
| <b>Kinder</b>                     |                     |    |
| 1 bis unter 4 Jahre               |                     | 15 |
| 4 bis unter 7 Jahre               |                     | 20 |
| 7 bis unter 10 Jahre              |                     | 30 |
| 10 bis unter 13 Jahre             |                     | 40 |
| 13 bis unter 15 Jahre             |                     | 50 |
| <b>Jugendliche und Erwachsene</b> |                     |    |
| 15 bis unter 19 Jahre             | 70                  | 60 |
| 19 bis unter 25 Jahre             | 70                  | 60 |
| 25 bis unter 51 Jahre             | 70                  | 60 |
| 51 bis unter 65 Jahre             | 80                  | 65 |
| 65 Jahre und älter                | 80                  | 65 |
| <b>Schwangere</b>                 |                     | 60 |
| <b>Stillende</b>                  |                     | 60 |

**Tab.3.2** Schätzwerte für eine angemessenen Zufuhr an Vitamin K  
[nach DGE, Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 3.Aufl., 2008]

Die durchschnittliche Aufnahme von VK in der Österreichischen Bevölkerung wurde im aktuellen Österreichischen Ernährungsbericht vom Institut für Ernährungswissenschaften nicht ermittelt. Der generelle Trend zeigt einen viel zu geringen Verzehr von Lebensmitteln mit hoher Nährstoffdichte, d.h. grundsätzlich zu wenig pflanzliche Lebensmittel (Obst, Gemüse, Vollkorngetreide, Hülsenfrüchte) und Milchprodukte. In Deutschland, das ein ähnliches Verzehrsmuster zeigt, geht die DGE davon aus, dass beim gesunden Erwachsenen kein Vitamin K Mangel vorkommt.<sup>25, 26, 42</sup>

McCANN und AMES halten aber den derzeit definierten Schätzwert für die Zufuhrempfehlung für zu niedrig, und ein langfristiger VK Mangel soll ein bedeutender Risikofaktor für viele Erkrankungen im Alter sein. Demnach sorgen evolutionsbiologische Mechanismen dafür, dass in Zeiten suboptimaler Versorgung mit VK zumindest die wichtigsten VK-abhängigen Funktionen gewährleistet sind. Da Blutgerinnungsstörungen in erste Linie die Lebensfunktion bedrohen, scheint es in diesem Zusammenhang für den Körper sinnvoll, vorzugsweise die Leber für die Bildung der Blutgerinnungsfaktoren mit VK zu versorgen. Erst danach werden die extrahepatischen Gewebe mit VK versorgt. Dieser Mechanismus sei dafür

verantwortlich, dass sich daher die ersten Zeichen einer VK-Mangelversorgung in Form von erhöhten untercarboxylierten extrahepatischen Gla-proteinen (ucOC, ucMGP) zeigen. Das soll eine Erklärung für die Korrelationen zwischen ucOC und Osteoporose, ucMGP und kardiovaskulären Erkrankungen und Mortalität und schließlich niedrige VK<sub>2</sub> Aufnahme und Mortalität und Krebs sein. Laut McCANN und AMES resultiere dies und die Tatsache, dass die sich im Alter häufenden DNA-Schädigungen einen Rückgang der Enzymaktivität (der VK-Zyklus erfordert die Aktivität von 2 Enzymen: GCCX und VKOR) bewirken in einem höheren Bedarf an Vitamin K, als bisher geschätzt. Der definierte Bedarf von 1µg/kg KG sei damit ein adäquater Wert zur Bedarfsdeckung um eine normale Hämostase zu gewährleisten, doch unsere Vitamin K Aufnahme aus der Nahrung scheint aus dem vorliegenden Blickwinkel zu niedrig, um die vielen extrahepatischen Funktionen der Gla-Proteine ausreichend zu bewerkstelligen.<sup>116</sup>

Ist der ältere Mensch tatsächlich in der Lage eine erhöhte VK Zufuhr in ausreichendem Maße zu resorbieren und wären dann dementsprechende Mengen im Organismus zur Verwertung vorhanden? Könnte dieses VK, was die Stoffwechselaktivität und -kapazität betrifft, metabolisiert werden? Abgesehen davon stellt sich die Frage, ob sich der tägliche Bedarf an Vitamin K aufgrund einer genetisch determinierten biologischen Verfügbarkeit nicht grundsätzlich individuell stark von Mensch zu Mensch unterscheiden kann. THIJSEN und PELZ charakterisierten 2001 verschiedene warfarinresistente Rattenstämme auf ihre Resistenz gegenüber verschiedenen Rotendiziden, die Tiere zeigten nicht nur gänzlich variierende Resistenzen gegenüber den getesteten Antikoagulantien, sondern unterschieden sich auch stark in ihrem Vitamin K Bedarf.<sup>96</sup> Polymorphismen der VKORC1 zeigen einen signifikanten Zusammenhang mit individuell unterschiedlich benötigten Warfarindosiseinstellungen, zudem variiert die benötigte Dosis zwischen verschiedenen Ethnien, wie z.B. Europäern und Asiaten.<sup>124</sup> Und um noch eine letzte verwirrende Überlegung hinzuzufügen, wäre es auch möglich, dass die Umwandlung von Phyllochinon zu MK-4 im Organismus mit westlichem Lebensstil vermindert oder gar gestört ist, sodass speziell in den extrahepatischen Geweben kaum MK-4 zur Verfügung steht?

### **3.3.2 Vitamin K Mangel**

#### **3.3.2.1. ernährungsbedingt**

Ein ernährungsbedingter, klinisch relevanter VK Mangel beim gesunden, erwachsenen Menschen kommt nicht vor, da die durchschnittlichen österreichischen, selbst einseitigen Ernährungsgewohnheiten den VK Bedarf ausreichend decken. Mit einer vollwertigen Ernährung sollten laut DGE, ÖGE, SGE,... jedenfalls adäquate Mengen an Vitamin K zugeführt werden können.<sup>25, 26, 42</sup>

Obwohl VK auch in der Synthese anderer Gla Proteine als die der Blutgerinnung von Bedeutung ist, wurden bisher VK Mangel und VK Verwertungsstörungen klinisch nur aufgrund eines Hauptbezugsparameters festgestellt: Störungen in der Blutgerinnung, dabei werden die VK abhängigen Gerinnungsfaktoren nicht mehr in ihre aktive Form umgewandelt und es können Hämostasestörungen und Koagulopathien auftreten, wie z.B. Spontanblutungen und verlängerte, vermehrte Blutungen bei Verletzungen. Da VK aber auch in der Synthese anderer Gla Proteine als die der Blutgerinnung von Bedeutung ist, folgt daher (in Kap. 3.3.1) laut McCANN und AMES, dass die bisher ernährungsphysiologisch und klinisch vernachlässigte Bedeutung des VK in der Synthese extrahepatischer Gla-Proteine einer neuen Zufuhrbewertung und daraus folgenden Anhebung der derzeitigen Empfehlungen bedarf.

Zu einem alimentären VK Mangel führt eine ausschließlich parenterale Ernährung ohne VK Supplementierung. Durch eine zusätzliche antibiotische Therapie könnte die Versorgung durch die Darmflora ebenfalls beeinträchtigt sein.

#### **3.3.2.2. krankheitsbedingt**

Schwere Resorptionsstörungen meist infolge von verschiedensten Erkrankungen der Gastrointestinalorgane können zu VK Mangelzuständen führen, wie Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, Zöliakie, Kurzdarmsyndrom u.a.<sup>61</sup> wodurch es zu Störungen der intestinalen Absorption von VK bzw. des Transports in die Hepatozyten kommt. Auch erworbene oder angeborene Lebererkrankungen können zu komplexen Hämostasestörungen führen, dabei spielt VK als Mangelvitamin unterschiedliche Rollen in Resorption und Verwertung.<sup>14</sup>

Genetische, funktionelle Störungen VK-abhängiger Proteine, wie der  $\gamma$ -Carboxylase, des Matrix-Gla-Proteins (Keutel-Syndrom), der Vitamin K-Epoxid-Reduktase können pathologischen Gerinnungstestergebnisse und –funktionen und Störungen im VK-Zyklus verursachen. Die genetische Mutation im Gen der VK-Epoxid-

Reduktase führt zu einer Anreicherung von VK-Epoxid im Plasma, da dieses nicht wie im normal aktiven VK-Zyklus in Vitamin  $KH_2$  umgewandelt werden kann, aus dem daraus entstehenden Mangel an  $VKH_2$  kommt es zu einer Steigerung der untercarboxylierten Gerinnungsfaktoren und in weiterer Folge zu einer verstärkten Blutungsneigung.<sup>14</sup> Da immer wieder neue VK-abhängige Proteine identifiziert werden und vermutlich noch nicht alle bekannt sind, sind damit möglich verbundene genetische, funktionelle Störungen ebenfalls noch nicht bekannt.

Ein erblich bedingter Mangel an allen von VK abhängigen Gerinnungsfaktoren ist zwar sehr selten, führt aber von Geburt an je nach Phänotyp zu erhöhten, aber unterschiedlich stark ausgeprägten Blutungsneigungen, intracranielle Blutungen eingeschlossen. Dem Typ 1 der sogenannten VKCFD1 liegt eine autosomal rezessiv vererbte Mutation im GGCX-Gen (Gamma Glutamyl Carboxylase) zugrunde, dem Typ 2, für die zweite Form des erblich bedingten Mangel aller VK-abhängigen Gerinnungsfaktoren, VKCFD2 ist eine ebenfalls autosomal rezessive Mutation im VKOR-Gen (Vitamin K Epoxid Reduktase Komplex) verantwortlich. In den meisten Fällen können die Blutungen dieser genetischen Erkrankung mit oraler VK Verabreichung behoben werden.<sup>95</sup> Forschungen in der Entwicklung von Antikoagulantien haben Untersuchungen auf diesem Gebiet vorangetrieben, da die Aufklärung des Pathomechanismus von VKCFD die Behandlung von Warfarin-, bzw. Marcumarresistenten (Wirkstoff von Marcumar: Phenprocoumon) und – hypersensitiven Menschen entscheidend verändert. Weitere Mechanismen, die zu Defekten in der VKOR führen können, sind nicht ausgeschlossen.

$\alpha_1$ -Antitrypsinmangel ist eine der häufigsten vererbten Stoffwechselerkrankungen, (autosomal rezessiv) mit einer Inzidenz in Mitteleuropa von 0,01 – 0,02% und entsteht aufgrund eines Polymorphismus des Proteinasesystems. Dabei kommt es zu Ablagerungen im ER der Hepatozyten und zu einem Mangel im übrigen Organismus.<sup>65</sup> Die Therapie besteht aus Physiotherapie, antiobstruktiver und antiinflammatorischer Medikation, Substitution mit humanem  $\alpha_1$ -Antitrypsin und operativen Therapieverfahren inklusive Lungen- und Lebertransplantation. Eine Nikotinabstinenz und Vermeidung von Lebernoxen wird vorgeschrieben.  $\alpha_1$ -Antitrypsinmangel ist immer wieder mit VKDB assoziiert, auffallend häufiger mit VKDB – Säuglingen mit oraler VKP gegenüber VKDB Säuglingen ohne VKP.<sup>83, 84</sup>

Zudem können biliäre Atresien, bes. Gallengangsatresien generell und bei Neugeborenen zu länger bestehenden Abflussbehinderungen im Bereich der

Gallenwege und damit zu Verwertungsstörungen von Vitamin K führen, da durch mangelnde Gallenflüssigkeit VK nicht (ausreichend) resorbiert werden kann. Symptome der Gallengangsatresie sind postpartal einsetzender, progredienter Icterus, dunkler Urin, entfärbter Stuhl und Juckreiz. Unbehandelt versterben diese Kinder innerhalb von drei Jahren.<sup>74</sup> Für die VKP ist dies ein wichtiger Krankheitsfaktor, da in diesem Fall nur eine parenterale VKP den sichersten Schutz für eine VKDB bieten könnte, dementsprechend wurde biliäre Atresie in den Untersuchungen von TRIPP<sup>83, 84</sup> ausschließlich bei VKDB-Säuglingen mit oraler VKP beobachtet. Ein einziger Fall von VKDB mit Choledochuszysten mit verabreichter i.m. VKP kam vor, sein Zustand wird nach 13 Jahren als „gut“ bewertet.

Galactosämie ist eine autosomal rezessiv erbliche Störung des Galactosestoffwechsels mit einer Inzidenz von ca. 1:50 000, bei der das Enzym Galaktose-1-phosphat-Uridinmonophosphat-Transferase fehlt. Laborchemisch zeigen sich ein ausgeprägter Icterus und eine Gerinnungsstörung, und ist für die Differentialdiagnose von Bedeutung. Es kommt zur Anreicherung von freier Galactose und Galactose-1-Phosphat in Blut und Geweben. In Österreich wird im Rahmen des Neugeborenen Screenings auf diese Stoffwechselerkrankung getestet. Nach wenigen Tagen beginnen die Neugeborenen zu erbrechen, weisen einen prolongierten Icterus neonatorum auf, leiden an Durchfällen, Galactosurie und es kommt zu Hepatomegalie mit rascher Ausbildung einer Leberzirrhose, zu Katarakt und geistiger Entwicklungsverzögerung, wenn die Galactosämie unbehandelt bleibt. Die Therapie erfordert eine möglichst rasch einsetzende, lebenslange, galactosefreie Ernährung, sowohl durch Verzicht auf Muttermilch, als auch auf Säuglingsanfangsnahrung auf (Kuh)milchbasis und Ausweichen auf ein geeignetes, industrielles Milchersatzpräparat.<sup>61, 92</sup> Bei TRIPP<sup>84</sup> scheint ein gestilltes Neugeborenes ohne VKP mit später VKDB (leichte Form) und vorliegender Galactosämie auf.

An Säuglinge mit genetisch bedingten Glukose-6- Phosphatdehydrogenase-Mangel (G6PDMangel oder Favismus) mit chronischer hämolytischer Anämie darf VK<sub>1</sub> nicht verabreicht werden, da durch bestimmte Medikamente, die die Oxidation von Glutathion steigern, eine akute Hämolyse beim Patienten ausgelöst werden kann<sup>91</sup> (bei dieser Erkrankung ist u.a. die Reduktion von oxidiertem Glutathion in den Erythrozyten vermindert, siehe auch Kapitel 1). Allerdings ist der G6PD-Mangel in Mitteleuropa sehr selten zu beobachten, er kommt häufiger und in verschiedenen Ausprägungen in Regionen vor, in denen Malaria verbreitet war oder ist. Wichtig ist



dabei die Unterscheidung zwischen einem Morbus hämolyticus neonatorum und einem G6DP- Mangel.

Beim Alagille-Syndrom ALGS, einer sehr seltenen Erbkrankheit (1:70 000 – 100 000) kommt es bei Neugeborenen zu einer Hypoplasie der Gallengänge, Pulmonalstenose, Wirbelkörperanomalien und Gesichtsdysmorphien und in weiterer Folge zu Gallenstauung mit Ikterus, Pruritus und Herzerkrankungen. Bei TRIPP wird ein Fall von Alagillesyndrom mit pathologischen Gerinnungswerten dokumentiert, dieses Neugeborene erhielt obligat die orale VKP und erlitt eine leichte, späte Form der VKDB.<sup>92, 84</sup>

### 3.3.2.3. medikamenteninduziert

Blutgerinnungshemmende Stoffe, sogenannte Antikoagulantien wirken als Vitamin K Antagonisten, wie etwa synthetische 4-Hydroxycumarinderivate (Warfarin, Acenocoumarol, Phenprocoumon), Antikonvulsiva wie Phenytoin, aber auch Tuberlostatika, Salicylate, Colestipol (Lipidsenker, der Gallensäuren bindet), Phenolphthalein (Laxantium) und Ciclosporin (Immunsuppressivum bei z.B. Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) .<sup>14, 90</sup>

Orale Antikoagulantien vom Cumarintyp (Phenprocoumon, Warfarin) beispielsweise hemmen die Aktivität der Vitamin K Epoxid Reduktase. Dadurch wird die Konzentration an VK Hydrochinon, dem Cofaktor für die Carboxylierung der Blutgerinnungsfaktoren, vermindert, es entsteht ein Vitamin K Mangel. Die fehlenden Carboxylreste führen zu einer verminderten Calciumbindungsfähigkeit, im äußersten Fall können die Gerinnungsfaktoren zur Gänze unwirksam werden. Pränatale Exposition durch die Mutter kann zu schweren Störungen beim Fötus führen. Der gleiche Wirkstoff wird in gerinnungshemmenden Rotendiziden (Ratten- und Mäusegiften) verwendet, bei häufigem, wiederholtem Einsatz entwickeln die Tiere Resistenzen gegenüber dem Wirkstoff.

Auch Antibiotika, z.B. Cephalosporine mit der N-Methyl-Thiotetrazolgruppe, eine Gruppe von Breitbandantibiotika, hemmen die Carboxylase- und Epoxidreduktase des Vitamin K Zyklus, sodass hier ebenfalls eine Verwertungsstörung auftreten kann.<sup>90</sup>

Obwohl bei Antikoagulanzen-therapie mit VK antagonistischer Wirkung eine spezielle Diätvorschrift für eine VK-reiche Ernährung nahe liegen würde, weil die tägliche Warfarindosis einer großen, individuellen Streuung unterliegt, was u.a.

durch eine unterschiedliche VK-Aufnahme über die Nahrung erklärt werden kann<sup>101, 96</sup>, so lagen die als erforderlich definierten Messgrößen, die Thromboplastinzeiten, überwiegend im therapeutischen Bereich und ließen eine VKreiche Diät als nicht notwendig erscheinen. Zumal die Resorption dieses Vitamins über die Nahrung kaum berechnet werden kann, aufgrund seiner Abhängigkeit von der Fettzufuhr und der individuellen Unterschiede, wie der Gallesekretion, der Pankreaslipaseaktivität und der eventuellen Aufnahme von intestinalem Menachinon schien eine VKreiche Diät nicht sinnvoll. Allerdings geben aktuelle Beobachtungen Grund zur Notwendigkeit einer hohen VK-Supplementation, da Warfarin aortale Verkalkungen aufgrund der Deaktivierung des VKD MGP induziert. Blutgerinnungsparameter alleine dürften als Beurteilungsgrundlage für die Medikamenteneinstellung des Antikoagulationspatienten offensichtlich nicht genügen<sup>72</sup>. Über die Verteilung von VK im Mangelzustand in den Geweben und über den Metabolismus ist wenig bekannt. Bestimmte Gewebespeicher können aber mobilisiert werden, um essentielle Funktionen eine zeitlang aufrechtzuerhalten, wie beispielsweise die gut nachweisbare Aufrechterhaltung der Hämostase.<sup>101</sup>

Usui et al. führten 1990 eine Humanstudie durch, in der untersucht werden sollte, wie schnell und schwerwiegend sich ein Mangel an VK in der zugeführten Nahrung auf VK-Speicher auswirkt. Es wurden VK-Konzentrationen im Plasma und der Leber (Biopsie) von Patienten vor und nach einer gastrointestinalen Operation ermittelt. Dazu erhielt die Interventionsgruppe eine VK-arme Diät (5µgK<sub>1</sub>/d) und die Kontrollgruppe eine Standard VK-Diät (150-450µg K<sub>1</sub>/d) vor der Operation. Nach der Operation erhielten beide Gruppen 3 Tage lang nur Elektrolyte, wasserlösliche Vitamine und Antibiotika. In der Interventionsgruppe fiel das Plasmaphyllochinon über 50% ab, in der Kontrollgruppe sehr steil über 70% innerhalb der ersten 24h, danach fiel es nur noch geringfügig ab und pendelte sich bis zum dritten Diättag ein. Der VK-Mangel führte auch zu einem, im Gegensatz zum Phyllochinon, stufenweisen Abfall der MK-7 Konzentration im Plasma. Am meisten signifikant sind die Ergebnisse der Leberbiopsie, die Patienten der Interventionsgruppe hatten deutlich erniedrigte Leberspeicher, sie wiesen 25% des Phyllochinongehalts desjenigen der Kontrollgruppe auf. Hepatische Menachinonkonzentrationen blieben in beiden Gruppen unverändert. Der Phyllochinonspeicher in der Leber ist sehr labil und bereits nach wenigen Tagen VK-Mangel erschöpft. In beiden Gruppen konnte postoperativ keine signifikante Erhöhung der Prothrombinwerte beobachtet werden, sie befanden sich im Referenzbereich. Funktionelle VK-Status Marker, wie PIVKA-II wurden in dieser Untersuchung nicht ermittelt, es wäre eine Möglichkeit gewesen einzuschätzen, ob eine verminderte γ-Carboxylierung durch verbleibende Menachinonspeicher in der Leber hätte ausgeglichen werden können.<sup>114</sup>

Vermutlich genügt eine mangelhafte Zufuhr von Nahrungsphyllochinon über einen Zeitraum von nur zwei Wochen, um bereits zu einer messbaren Reduktion der  $\gamma$ -Carboxylierung der hepatischen und Knochen- Gla-Proteine zu führen. Gleichzeitig dürfte aber der hepatische Speicher langkettiger Menachinone, mit einem langsameren turnover als Puffer von Bedeutung sein, für den Fall, dass die Phyllochinonaufnahme mangelhaft ist. Dem Knochengewebe fehlt ein derartiges Reservoir an langkettigen Menachinonen, was mitverantwortlich sein könnte, dass die Carboxylierung des Osteocalzins viel stärker auf Mangel reagiert, als die Carboxylierung des Prothrombins. Die Frage der Aufnahme von bakteriellen Menachinonen aus dem humanen Darm und in welchem Ausmaß diese in der Lage sind, die Synthese hepatischer und extrahepatischer Gla-Proteine zu unterstützen, vor allem dann, wenn die Zufuhr von VK aus der Nahrung unzureichend ist, soll hier offen bleiben.

### **3.3.3. Beurteilung des VK Mangels**

In der klinischen Diagnostik kann Vitamin K<sub>1</sub> entweder direkt im Plasma gemessen werden, je nach Messmethode variiert die Konzentration zwischen 0,3-1,0ng/ml Blut (abhängig von Ernährung und Plasmalipidkonzentration) und/oder indirekt über das Gerinnungssystem, als Maßstab für seine Wirksamkeit. Dabei ist das Leitsymptom der VK Mangelblutung die Verlängerung der Thromboplastinzeit (PTT), daneben werden noch folgende Testmöglichkeiten angewendet: gesteigerte Prothrombinzeit (Quick), reduzierter Thrombotest- oder Normotestwert, reduzierte Koagulationsaktivität der Faktoren II, VII, IX und X sowie Proteine C und S. Zunehmend wird heute die Ermittlung der Anwesenheit von PIVKA und ucOC als funktionelle Marker zusammen mit den Messungen der VK<sub>1</sub>-Plasmakonzentration für die Einschätzung der Bioverfügbarkeit von VK im Gewebe und den VK-Status verwendet (trotz der Fragen um die Interpretation der gemessenen Werte, siehe unten).

Gesteigerte Prothrombinzeit (Quick)  
 Gesteigerte partielle Thromboplastinzeit (PTT)  
 Reduzierter Thrombotest- oder Normotestwert  
 Reduzierte Koagulationsaktivität der Faktoren II, VII, IX und X, sowie Proteine C und S  
 Anwesenheit von PIVKA und/oder ucOC  
 Phyllochinonplasmakonzentration

**Abb. 3.5** Übersicht über die Beurteilungskriterien für die Bestimmung eines VK-Mangels

Beim Koller Test wird einmalig VK intravenös verabreicht und die Änderung des Quickwertes vor der Gabe bewertet. Es kann damit eine Carboxylierungsstörung VK abhängiger Gerinnungsfaktoren aufgrund eines Mangels oder einer Verwertungsstörung (Proteinsynthesestörung) festgestellt werden.

Als funktionelle Marker für den  $\gamma$ -Carboxylierungsstatus von Gla-Proteinen dienen die gewebspezifischen PIVKA Werte für das hepatische Prothrombin und ucOC Werte für das Knochenosteocalzin. PIVKAII und ucOC Werte sollen die biologische Verfügbarkeit von VK in den jeweiligen Geweben repräsentieren, je höher ihre Konzentration, desto geringer der Umfang der VK-abhängigen  $\gamma$ -Carboxylierung. Durch VK- Supplementation kann die  $\gamma$ -Carboxylierung effektiv angehoben werden.<sup>101</sup> „Untercarboxyliert“ bedeutet in diesem Zusammenhang, dass nicht alle Glutamylreste vollständig carboxyliert sind und die  $\gamma$ -Carboxylierung lediglich durch eine erhöhte VK-Dosis angehoben werden kann, dadurch sinkt beispielsweise die Konzentration an ucOC. Untercarboxyliertes Osteocalzin ucOC im Serum ist als Marker sensibler als die Gerinnungsfaktoren, da diese noch im Normbereich liegen, während ucOC bereits messbar ist. VK Supplementierung verringerte in Untersuchungen das ucOC (als Zeichen eines latenten Mangels), Menschen mit erniedrigter VK Aufnahme zeigten ebenfalls ucOC, und die Behandlung mit Vitamin K Antagonisten führten zu ucOC. Möglicherweise könnte mithilfe der ucOC Werte das Risiko von Hüftfrakturen abgeschätzt werden. VK Supplementierung reduziert das Auftreten einer vertebrealen Fraktur bei Frauen mit Osteoporose.<sup>43</sup>

Wird untercarboxyliertes Osteocalzin (ucOC) als Beurteilungskriterium für einen latenten VK Mangel herangezogen, so ist dieser in der Bevölkerung viel häufiger nachzuweisen, als bisher angenommen und würde eine Überarbeitung und Neudefinition der bisherigen täglichen Zufuhrempfehlungen erfordern, siehe auch VERMEER<sup>116</sup>.

Die Frage ist aber, welche physiologischen Auswirkungen überhaupt eine Untercarboxylierung auf hepatische und periphere Gla-Proteinfunktionen hat, und ob sich auch andere Parameter des Knochenstoffwechsels ändern, denn dazu fehlen konkrete Untersuchungen. Abgesehen davon ist die Affinität der VK-abhängigen Vorstufen der Gerinnungsfaktoren PIVKA zur Bindungsdomäne der Carboxylase unterschiedlich hoch. Es ist also nicht eindeutig, wie weit untercarboxylierte Formen, wie Prothrombin (PIVKA II) als Symptom einer ungenügenden Versorgung gewertet werden dürfen (siehe auch Kapitel 3.3.2 Vitamin K Mangel)<sup>15</sup>

Zur Gewährleistung einer optimalen Carboxylierung von OC müsste die VK-Zufuhr, bzw. Dosis um ein Vielfaches höher sein als der derzeit empfohlene Schätzwert und liegt vermutlich über 1000µg/d.<sup>15, 116</sup> In den nächsten Jahren ist zu erwarten, dass die Notwendigkeit einer generellen Anhebung der Zufuhrempfehlung neu bewertet wird, und ob eine ein erhöhter Schätzwert ausschließlich als Grundlage einer Therapiedosis für Risikogruppen empfohlen wird.

### **3.3.4 Hypervitaminose und Toxizität**

Der tolerable Upper Intake Level (kurz: Upper Level UL) gibt die höchste Gesamttagesdosis an VK an, bei der keine toxischen Effekte einer Überdosierung zu erwarten sind. Als Grundlage für die Toxizitätstests wird für Vitamin K der empfindlichste toxische Endpunkt beim Menschen definiert: Störung der Blutgerinnung (derselbe toxische Endpunkt wie der des Vitamin E).<sup>80</sup> Phyllochinon hat eine extrem niedrige Toxizität, bei der auch für Mengen des 500fachen Schätzwertes (therapeutisch üblich) keine toxischen Wirkungen bekannt sind, das entspricht 30 - 40mg.<sup>26, 89, 90</sup>. Die LD<sub>50</sub> beträgt bei der Maus 25g/kg KG<sup>14</sup>.

Die heute gültige europäische Empfehlung des Scientific Committee on Food (SCF 200-2003) für einen UL wurde nicht definiert, da die Datenbasis für eine adäquate Berechnung nicht ausreicht, weder für Säuglinge noch für Erwachsene o.a. Personengruppen. Auch die USA und Canada (FNB-US/Canada) können durch das Institute of Medicine (IOM) keine Empfehlung für den UL angeben. Bemerkenswert ist, dass eine expert group on vitamins and minerals der UK (EVM-UK) 2003 1mg als UL definierte, 1997 ein Bericht im Auftrag der European Federation of Health Product Manufacturers Association EHPM (CRN 1997) einen UL von 30mg angibt und 2003 das Council for responsible nutrition US einen UL von 10mg, als Richtlinie für die US-amerikanische Nahrungsergänzungsmittelindustrie.

Die Risikoabschätzung von Vitaminen ist weltweit von zunehmender Bedeutung, da international die Nährstoffanreicherung von Lebensmitteln zunimmt und Empfehlungen von Ernährungsgesellschaften erheblich durch den Konsum von NEM (Nahrungsergänzungsmittel) und Functional Food überschritten werden können. Verschiedenste offizielle Experten-, Interessensgruppen und Institutionen aus dem Lebensmittel- und Arzneimittelsektor sind daran beteiligt und interessiert (wie oben sichtbar), kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen und können in weiterer Folge gesetzliche Lebensmittelrechtsbestimmungen entscheidend beeinflussen.<sup>89</sup>

Tatsächlich existieren wenige experimentelle Untersuchungen über die Effekte von sehr hohen Dosen VK auf Hämostase und Thrombosen. In einem Rattenversuch von Ronden et al. zeigten 1997 sehr hohe Dosen keinen Effekt auf die Blutgerinnung, und dennoch eine erhöhte Tendenz zu arteriellen Thrombosen. Der Mechanismus ist unklar, die Autoren vermuten aber einen Effekt in der Differenzierung von Monocyten zu Makrophagen.<sup>95</sup>

In der pharmakologischen Literatur werden in den jährlich herausgegebenen Side effects of drugs annuals SEDA weltweite Daten zu Beobachtungen von Arzneimittelnebenwirkungen u.a. Fachinformationen gesammelt veröffentlicht. VK<sub>1</sub> ist hier unter der Bezeichnung Phytomenadion zu finden, von konkreten Fallbeispielen und Auswirkungen nach parenteraler Verabreichung von Vitamin K<sub>1</sub> wird folgendes berichtet: Scleroderma (chronische Autoimmunerkrankung der Haut), Herzkreislaufkollaps<sup>27</sup>; Hautreaktionen<sup>28</sup>; sklerodermiforme Hypodermatitis, unspezifische Hautläsionen mit diffuser Sklerose<sup>29</sup>; cerebrale Thrombosen (nach 10mg VK<sub>1</sub> i.m., und i.v.) bei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung<sup>30</sup>, nach i.m. VKP eines Neugeborenen subkutane sklerodermieähnliche Verhärtungen an den Injektionsstellen nach 1 Jahr, progressiv mit Exazerbation bis zum Alter von sechs<sup>31</sup>; ein Leberzirrhosepatient (Endstadium) mit Koagulopathie erlitt eine anaphylaktische Reaktion nach einer Infusion mit 10mg VK<sub>1</sub>, keine Reaktionen zeigte er nach subkutaner und i.m. Gabe, Erythema, sklerodermieähnliche Läsionen mit wiederholt beobachteter Narbenbildung<sup>31</sup>; ernsthafte Komplikationen nach i.v. Gabe geben Anlass zu Empfehlung langsamer i.v. Gabe < 1mg/min<sup>32</sup>; allergische Hautreaktionen mit juckender erythematöser verhärteter Plaque nach i.v. und i.m. VK<sub>1</sub><sup>33</sup>; hämolytische Anämie und Neugeborenenikterus nach pharmakologischer Dosis<sup>34</sup>; Pseudosclerodermie nach i.m.<sup>35</sup>; Sklerodermoidale Hautveränderungen, anaphylaktischer Schock (trotz verdünnter Lösung und langsamer Infusion), anaphylaktischer Schock einer Gebärenden nach 10mg Konakion i.m., dadurch erforderliche Sectio caesarea und darauffolgender Tod des Neugeborenen nach der Geburt<sup>36</sup>; allergische Dermatitis nach parenteraler VK Gabe bei 9jährigem Kind mit Faktor X – Mangel<sup>37</sup>. Dermatitis an der Einstichstelle, ausbreitend über den gesamten Körper nach viermaliger, täglicher 10mg Dosis VK i.m., 6 Monate lang<sup>8</sup>. VK Dermatitis wird in der pharmakologischen Literatur in die Kategorie „selten“ (1/1000 – 1/10 000)

eingordnet. Allergische Reaktionen auf die parenterale Verabreichung werden lange auf Reaktionen des Immunsystems zurückgeführt und treten laut einschlägiger Literatur generell bei Patienten mit Koagulationsstörungen oder Leberproblemen auf. Bis das Australian Adverse Drug Reactions Advisory Committee (ADRAC) Anfang der 1990er Jahre aufgrund der hohen Inzidenz anaphylaktischer Reaktionen unmittelbar auf die i.v. Gabe von VK-Präparaten (männlich: weiblich = 1,6:1) auf einen Zusammenhang mit Cremophor® schließt.<sup>2</sup> Das einzige in Australien verwendete VK-Präparat enthielt Cremophor EL®, das in den 1980er Jahren häufig auch in verschiedenen Anästhetika verwendet wurde und verantwortlich für eine hohe Inzidenz anaphylaktischer Reaktionen (1:1000) gewesen sein dürfte, die mit der zurückgehenden Verwendung des Präparats abnahm. Auch Cyclosporine (Immunsuppressiva bei z.B. Colitis ulcerosa und Morbus Crohn, usw...) enthalten Cremophor<sup>1</sup>, bis heute, wie z.B. Sandimmun Neoral® Kapseln, sie enthalten Polyoxyl-40-hydriertes Rizinusöl<sup>90</sup>. In konventionellem Konakion® wurde als nicht-ionisches Lösungsmittel ebenfalls eine Kombination aus Ethylenoxid mit Rizinusöl (auch polyethoxyliertes Rizinusöl) verwendet. Cremophor EL®, die Herstellerbezeichnung dieses Lösungsmittels von BASF, das heute in Konakion MM® nicht mehr enthalten ist<sup>90</sup>, aktiviert den spontanen und antikörperunabhängigen alternativen Komplementweg und kann in Abwesenheit der klassischen antikörpervermittelten Komplementaktivierung, aufgrund ausgedehnter Histaminausschüttung, zu einem kardiovaskulärem Kollaps und zum Tod führen. Das immunologische Gedächtnis könnte eine Erklärung dafür sein, dass auch erst bei wiederholter Cremophorgabe zwischen 5-15 Tagen nach einer Erstgabe entsprechend einer zellulären Immunantwort ernsthafte Reaktionen auftreten können. Die einmalige intravenöse Gabe von Konakion kann mit ernsthaften Risiken verbunden sein und sollte vermieden werden bzw. nur in akuten Notfällen in dieser Form verabreicht werden.<sup>2, 36</sup> Bei bekannter Überempfindlichkeit gegenüber diesem Wirkstoff ist die Verabreichung, v.a. die i.v. Gabe kontraindiziert.<sup>2</sup> Über einen weiteren Fall von kardiovaskulärem Kollaps, als Folge einer allergischen Reaktion, (zur Behandlung einer postoperativen Hämostase) wurde 1999 berichtet, es wurden 10mg VK i.v. >10 min verabreicht<sup>6</sup>. 1999 wird von einer weltweit durchgeführten Kontrolle bzw. Beobachtung nach dem Vertrieb von damals konventionellem Konakion (das Cremophor® enthielt) und einem neuen (dem derzeit gängigen) Präparat, dem Mischmizellen Konakion (Konakion MM®) berichtet. 120 von 404

Arzneimittelnebenwirkungen waren schwerwiegend, davon waren 117 mit konventionellem Konakion assoziiert. Dieses Ergebnis zeigt signifikant, dass Konakion mit dem Inhaltsstoff Cremophor EL eine höhere Inzidenz von Nebenwirkungen besitzt, als Konakion MM.

Vitamin K<sub>1</sub> selbst, als chemisch-technisch produzierter Wirkstoff, wird aus optisch inaktivem Isophytol synthetisiert und unterscheidet sich vom natürlichen VK<sub>1</sub> dadurch, dass es keine optische Drehung besitzt (die Zentren 7' und 11' sind racemisch), besitzt aber die gleiche biologische Wirksamkeit.<sup>56</sup>

Konakion MM® enthält derzeit „*Glycocholsäure, Lecithin, Natriumhydroxid, Salzsäure und Wasser für Injektionszwecke*“<sup>90</sup> zusammen.

Arzneimittelnebenwirkungen unmittelbar nach der oralen VK-Gabe werden bis 1989 als selten (1/1000 – 1/ 10 000) angeführt, es finden sich in den SEDA aber keine Angaben zur Art der Symptomatik<sup>34</sup>. Darauf folgt wieder nur ein kurzer Bericht, dass bei oraler Gabe von VK<sub>1</sub> nur wenige akute negative Arzneimittelnebenwirkungen beobachtet werden konnten, ein Beispiel von einer allergischen Reaktion eines siebenwöchigen Neugeborenen bei der dritten VKP (1mg) in Form von Urtikaria an den Extremitäten bis zum Torso, wird angeführt<sup>3</sup>.

Von der Herstellerfirma Roche Austria werden folgende Angaben zu Nebenwirkungen von Konakion MM® gemacht: „**Erkrankungen des Immunsystems** Sehr selten: Allergische Reaktionen (bis zum Schock) können nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Es liegen vereinzelt Berichte über ein mögliches Auftreten von anaphylaktischen Reaktionen nach intravenöser Applikation vor. Besonders Patienten mit Leberinsuffizienz, -zirrhose oder Hepatitis können von Überempfindlichkeitsreaktionen betroffen sein, hierbei können in seltenen Fällen die Gerinnungsfaktoren weiter absinken<sup>14</sup>. **Gefäßerkrankungen** Thromboembolische Komplikationen können vor allem bei gleichzeitigem Vorliegen anderer Risikofaktoren (Übergewicht, Immobilität, usw.) auftreten. **Allgemeine Erkrankungen und Beschwerden am Verabreichungsort** Sehr selten traten nach intravenöser Verabreichung Venenirritationen oder Phlebitis auf. Die i.m. Injektion kann lokale Schmerzen, manchmal verbunden mit einem Erythem an der Injektionsstelle, verursachen. Druckempfindlichkeit kann ebenfalls auftreten.“<sup>90</sup>

Auf Teratogenität, also auf reproduktionstoxische Eigenschaften im Tierversuch wurde VK<sub>1</sub> nur unzureichend untersucht, Humanuntersuchungen liegen gar nicht vor. VK<sub>1</sub> passiert die Plazentaschranke nur gering und aufgrund der langjährigen Erfahrung mit VK<sub>1</sub> geht der Hersteller davon aus, dass keine reprotoxischen Wirkungen zu erwarten sind.<sup>90</sup>



## 4 Diskussion

### 4.1 VKP und Krebspidemiologie

Die kurzfristigen, akuten erwünschten und unerwünschten Wirkungen sind in den Jahren der Anwendung gut beobachtet worden. Gar nicht hingegen wurde auf potentiell schädigende Langzeitwirkungen der VKP untersucht, es existieren bis Anfang der 90er Jahre keine systematischen Studien dazu.

Schließlich stieß eine *r e t r o s p e k t i v e* Kohortenstudie aus Großbritannien<sup>48</sup> unerwartet auf eine signifikante Korrelation zwischen parenteraler VKP und Krebs im Kindesalter (<10 Jahren). Diese Studie führte zur weltweiten Wiederaufnahme der Risikobeurteilung der VKP in Pädiaterkreisen. GOLDING et al. verglichen retrospektiv 195 Kinder mit diagnostiziertem Krebs ( $\leq 10$  Jahren), die zwischen 1965 und 1987 in zwei verschiedenen Krankenhäusern geboren wurden, n=558 Kindern als Kontrollgruppe, mit denselben Geburtsjahren in denselben Entbindungsstationen. Ziel war die Datensammlung und Ermittlung von potentiellen Faktoren, die mit darauffolgendem Krebs im Kindesalter assoziiert waren. Unerwartet statistische Signifikanz zeigte sich bei Kindern, deren Geburt außerhalb der physiologischen Schwangerschaftsdauer stattfand und bei Kindern, die in der ersten Lebenswoche ein Medikament erhielten. Weitere logistische Analysen schlossen potentielle abhängige Faktoren aus, wie z.B. Rauchen in der Schwangerschaft, Pethidingabe während der Geburt (krampflösendes, opioides Analgetikum), Strahlenexposition auf das Abdomen in der SS, Rubella Antikörper,..... mit dem Ergebnis, dass die VKP einen statistisch unabhängigen Risikofaktor bildete. Auf Kritik von VAN KRIES wurde eine nochmals überarbeitete statistische Analyse entwickelt, die die Art der Verabreichung berücksichtigte, bei deren Auswertung sich zeigte, dass Neugeborene mit 1mg i.m. VKP (Konakion®) doppelt so häufig im Kindesalter Krebs entwickelten, als Neugeborene mit oraler VKP und ohne VKP (odds ratio 2,16; 95% Konfidenzintervall 1,27 – 3,67). Das Krebsrisiko zwischen oraler VKP oder ohne VKP war minimal, daher wurden beide Gruppen in eine Analysengröße für weitere statistische Untersuchungen zusammengefasst. Eine Selektion der verschiedenen diagnostizierten Tumorarten ergab für Leukämie und i.m. VKP eine signifikant erhöhte statistische Assoziation von 2,65 (95% Konfidenzintervall 1,34-5,24) gegenüber den anderen Krebsarten.

Kritisiert wurde an dieser Studie, dass im Zeitraum der vermehrten i.m. VKP (1978 – 1982) die Leukämieinzidenz von Kindern in GB nicht anstieg, zudem wurden Geburtshilfemaßnahmen gegenüber Spontangeburt nicht berücksichtigt.<sup>3</sup> Die statistischen Auswertungen von GOLDING et al. ergaben ein erhöhtes Krebsrisiko nur für i.m. VKP, nicht jedoch für orale Verabreichung, wo doch beide Formen zu der erwünschten Wirkung der massiv erhöhten VK-Plasmakonzentration führen. Darüber hinaus wurde konventionelles, d.h. cremophorhaltiges Konaktion® verabreicht, es könnte daher nur der Effekt des gesamten Präparates aufgrund dieser Daten eingeschätzt werden, nicht aber die Wirkung von Vitamin K<sub>1</sub> selbst.

Eine großangelegte schwedische Studie<sup>39</sup> mit der medizinischen Datensammlung von 1 384 424 reifgeborenen Säuglingen ohne instrumentelle Geburtshilfe aus den Jahren 1973 - 1989, konnte ein Jahr später die Ergebnisse der GOLDING Studie nicht reproduzieren bzw. bestätigen. Verwendet wurde dasselbe Präparat (Konaktion®) in derselben Dosierung (1mg) verglichen wurde ebenso die Entstehung von Krebs im Kindesalter in Abhängigkeit von der i.m. bzw. oralen VKP. Die Odds Ratio für alle Krebsarten nach i.m. VKP betrug 1,01 (95% KI; 0,88 – 1,17), und für Leukämie 0,90 (0,70- 1,16). Es wurde eine eingeschränkte Auswertung der Geburtsjahrgänge von 1982-89 vorgenommen, um Krebserkrankungen nur bis zum 10. Lebensjahr zu erfassen, sodass die Daten mit der GOLDING Studie vergleichbar wurden, die Odds Ratio in dieser Gruppe für alle Krebsarten betrug 1,11 (0,88-1,40) und für Leukämie 1,20 (0,69-2,08). Insgesamt konnten die Autoren kein erhöhtes Risiko für Neugeborene mit i.m. VKP und insgesamt VKP feststellen, an Krebs im Kindesalter zu erkranken.

KLEBANOFF et al. werteten ebenfalls kurz auf die diskutierte GOLDING Studie, basierend auf den Daten des Collaborative Perinatal Projects CPP die Häufigkeit, nach VKP an Krebs zu erkranken in einer epidemiologischen Fall – Kontrollstudie aus<sup>63</sup>. Die ursprüngliche prospektive CPP Studie wurde zwischen 1959 und 1966 USA-weit durchgeführt, umfasste 54 795 Kinder und sollte der Evaluation von Risikofaktoren in der Entstehung von neurologischen Entwicklungsstörungen im Kindesalter dienen. Die VK-Applikation wurde im Nachhinein mithilfe von medizinischen Aufzeichnungen ermittelt. VK wurde 68% der 44 Krebsfälle und 71% der 226 Kontrollkinder verabreicht.

| Art des Krebses | Anzahl der Fälle | Odds Ratio (95% KI) |
|-----------------|------------------|---------------------|
| Leukämie        | 15               | 0,47 (0,14 – 1,55)  |
| Gehirntumor     | 7                | 1,37 (0,15 – 12,6)  |
| Neuroblastom    | 5                | 2,86 (0,30 – 27,1)  |
| Wilmstumor      | 5                | - †                 |
| Lymphom         | 7                | 0,25 (0,04 – 1,62)  |
| andere          | 7                | 0,64 (0,12 – 3,45)  |
| Gesamt          | 44               | 0,84 (0,41 – 1,71)  |

**Tab.4.1** Odds Ratio von Krebs bei Kindern mit VKP

In der Zeit, in der die CPP in den USA durchgeführt wurde, war die i.m. Prophylaxe der medizinische Usus, ebenso wie diverse Menadionpräparate, wie eines der beliebtesten Synkavit®, wie aus anderen Studien hervorgeht. In dem Artikel geben die Autoren KLEBANOFF et al. nicht die im Studienzeitraum angewendeten Präparate an, bemerken jedoch zumindest, dass die einzelnen Markenpräparate, die in der CPP verwendet wurden, heute nicht mehr produziert werden und auch nicht länger in der neonatalen Prophylaxe empfohlen werden.<sup>63</sup> Die Wahl des Präparates ist jedoch von entscheidender Bedeutung im Hinblick auf die Risikobeurteilung. Trotz der heute unzweifelhaften Mutagenität von Menadion und dessen Derivaten galt die Anwendung der i.m. VKP (anno 1959-66!) aufgrund des vorliegenden Untersuchungsmaterials mit dem zusammenfassenden Ergebnis für die Odds Ratio für alle Krebsarten von 0,84 (0,41 – 1,71, siehe Tab.) noch in den 90ern als sicher, obwohl das Risiko für einzelne, bestimmte maligne Tumore allerdings nicht ausgeschlossen werden konnte, wie z.B. Neuroblastome (siehe Tab.), mit einer hohen Odds Ratio von 2,86 und Gehirntumore mit 1,37 (0,15 – 12,6). Vor dem pathophysiologischen und pharmakologischen Hintergrund mag das Resultat dieser statistischen Auswertung heute überraschen.

VON KRIES et al. und ANSELL et al. konnten keinen Zusammenhang zwischen VKP und Krebserkrankungen finden, ebenso, wie OLSEN et al. keine eindeutigen Ergebnisse erzielte. PASSMORE et al. und PARKER et al. wiederum konnten das Leukämierisiko im Kindesalter nach erfolgter i.m. VKP nicht ausschließen<sup>66</sup>

#### **4.2 Vitamin K Status von Neugeborenen - evolutionsbiologisch sinnvoll?**

Für eine fundierte Risikoeinschätzung zeigt sich die epidemiologische Bewertung in diesem Zusammenhang weder geeignet, noch schlüssig, insgesamt für wenig evidenzbasiert, und allenfalls als eine Zusatzinformation, die eine klinisch-

experimentelle Überprüfung notwendig macht. Daher interessiert vor diesen statistisch ausgewerteten Korrelationen vielmehr die biologische Plausibilität einer potentiellen Kanzerogenität bzw. Mutagenität von sehr hohen VK-Plasmakonzentrationen beim Neugeborenen. Dabei sollte auch grundsätzlich die Frage nach der evolutionsbiologischen Sinnhaftigkeit berücksichtigt werden, warum in der frühkindlichen Entwicklung reifgeborener, gesunder, gestillter Säuglinge, der Zustand eines physiologisch niedrigen Vitamin K Spiegels, heute anerkannt als Vitamin K Mangel bezeichnet, induziert werden könnte.

#### **4.2.1 Blutgerinnung des Neugeborenen**

Die Konzentrationen der VKD Blutgerinnungsfaktoren (Prothrombin, VII, IX und X) von gesunden Neugeborenen entsprechen zwischen 30 und 60% der Erwachsenenwerte, fallen am zweiten bzw. dritten Tag bis auf die Hälfte ab und steigen wieder ab dem Zeitpunkt des „Milcheinschusses“ bzw. Fütterungsbeginns<sup>100</sup>. Erst nach Wochen bis Monaten gleichen sich die Gerinnungsfaktoren an das Erwachseneniveau an. Eine große Anzahl von Untersuchungen konnten nachweisen, dass die Gabe von VK den Prothrombinabfall im Neugeborenenblut in den ersten Lebenstagen sicher verhindert, wenn auch GOBEL et al. wiederum sowohl mit als auch ohne VKP keinen Unterschied in Faktor II und VII Aktivitäten bei gesunden Neugeborenen zwischen 3. und 4 Lebenstag feststellen konnten, ähnlich MORI et al., die mit und ohne VKP keinen Unterschied in der Aktivität der Faktoren II, VII und X bei Frühgeborenen über einen Zeitraum von 24 h feststellten.<sup>79</sup> MALIA et al. bestätigen in ihren eigenen experimentellen Studie mit n= 24 gesunden Neugeborenen, die davor bereits vielfach festgestellten verlängerten Prothrombinzeiten und die verringerte Koagulationsaktivität VKD Gerinnungsfaktoren, schlussfolgern aber, dass die niedrigen Konzentrationen an VKD Gerinnungsfaktoren die verringerte hepatische Synthese des gesamten Gerinnungsfaktor II Molekülkomplexes widerspiegeln, nicht aber eine Konsequenz eines VK Mangels sein könnten. Ein Prothrombinmangel und ein Mangel der Aktivität der VKD Gerinnungsfaktoren des Neugeborenen insgesamt ist nichts Ungewöhnliches und muss nicht zu Blutungen führen<sup>71</sup>, die Wahl der Definition „Vitamin K Mangel“ für das Auftreten des MHN ist somit fraglich, da somit als Zielkrankheit einer generellen VKP die verringerten Werte der Gerinnungsfaktoren behandelt wird, die einen Risikofaktor bilden, jedoch nicht Ursache der auftretenden

Blutung sind. Diesen Risikofaktor auszuschließen erwies sich experimentell und für eine generelle Durchführung effektiv, da VK in zahlreichen Versuchen sehr gut in der Lage ist, die VKD Gerinnungswerte auf Erwachsenenenniveau anzuheben. Inwieweit der MHN selbst in den westlichen Industrienationen aufgrund der VKP zurückgegangen ist, in wie vielen Fällen er trotz VKP auftritt, und Zahlen über die tatsächliche Inzidenz lässt sich aus den Daten von McNinch in Kapitel 2 gut ermitteln.

Nach MALIA et al. wäre auch eine Differenzierung zwischen der Reduktion des gesamten Gerinnungsfaktorkomplexes und PIVKA Proteinen fehlerhaft. VAN DOORM et al. konnten damals (1977) im Nabelvenenblut von n=43 gesunden Neugeborenen keine PIVKA II Konzentrationen detektieren, dafür aber in 25 von 43 Proben einen bis dato unbekannten heparinähnlichen Inhibitor.<sup>145</sup> Heute gelten die PIVKA Werte als empfindliche und spezifische Marker des Vitamin K Status. In einer aktuelleren Untersuchung wurde der PIVKA II Status von Föten während der Schwangerschaft ermittelt<sup>86</sup>. Dabei zeigten sich unterschiedliche Konzentrationen abhängig vom Schwangerschaftsabschnitt. Von den n= 136 Neugeborenen waren 63 Frühgeburten, ausgeschlossen wurden Schwangerschaften mit Präeklampsie, pränataler Antibiotikagabe und diverse mütterliche Erkrankungen. PIVKA II Werte im Nabelvenenblut variierten folgendermaßen: Bis zur 22. SSW konnte ein moderater Anstieg verzeichnet werden, 22. – 36. SSW ein kleiner Rückgang, trotzdem übertrafen die Werte noch diejenigen von gesunden Erwachsenen, nach der 37. SSW wurde ein außergewöhnlicher Anstieg verzeichnet und ein darauffolgender schrittweiser Anstieg. VK abhängige Blutgerinnungsfaktoren befanden sich in der 22. – 36. SSW in niedrigen Konzentrationen und stiegen bis zum Ende der Schwangerschaft kontinuierlich zu Neugeborenenwerten. Der starke Anstieg an PIVKAs nach der 37. SSW könnte möglicherweise eine Konsequenz aus einem erhöhten Bedarf für Vitamin K aufgrund der Leberreifung des Feten sein, zudem besitzt die Plazenta vermutlich die Fähigkeit, Vitamin K während der verschiedenen Schwangerschaftsabschnitte in unterschiedlichen Mengen zu transportieren.

Wie weit PIVKAII Werte zur Einschätzung einer unzureichenden Versorgung herangezogen werden können ist umstritten (siehe Kapitel 3.3.3), da die Affinität der unterschiedlichen VKD PIVKAs zur Bindungsdomäne der GGCX unterschiedlich hoch ist, und für eine vollständige Carboxylierung die VK Zufuhr über 1000µg liegen müsste und nur über Supplementation erreicht werden könnte. Die durchschnittliche

tägliche Aufnahme von Europäern beträgt etwa 150 - 250µg (siehe Kap. 4.2.2) und könnte über eine VK reiche Ernährung allenfalls verdoppelt werden, in Ländern, in denen die Nahrungsqualität gut und die Versorgung mit VK reichen Lebensmitteln konstant ist, erscheint ein Versorgungsengpass unwahrscheinlich. Vielmehr interessiert die Interaktion untercarboxylierter Formen mit anderen Parametern, z.B. denen des Knochenstoffwechsels, aber auch anderen. Beispielsweise wurde im Tierversuch mit Ratten den Versuchstieren eine sehr VE reiche Nahrung gefüttert, die extrahepatischen VK- Gewebekonzentrationen zeigten sich niedriger als in der Kontrolle und hohe VE-Dosen über Supplementation (670mg) beim Menschen steigerten die Konzentration an PIVKAs im Serum.<sup>112</sup> Interaktionen von PIVKAs sind bisher kaum untersucht und daher auch die physiologische Auswirkungen und deren Interpretation noch nicht abschätzbar.

Das fötale Blutgerinnungssystem ist zwar unreif und noch nicht voll entwickelt, aber es herrscht ein regulierter physiologischer steady state der Hämostase auf niedrigem Niveau, da nicht nur die gerinnungsfördernden Faktoren, sondern auch die gerinnungshemmenden Proteine C und S ebenfalls erniedrigte Werte zeigen. Somit dürfte das Blutgerinnungssystem funktionell völlig den Erfordernissen des Neugeborenen genügen, sodass dieser „physiologische Mangel“ im Vergleich zu Erwachsenenwerten, in den allermeisten Fällen ohne eine klinische Blutung einhergeht (auf 100 000 Neugeborene ohne VKP 1,62 Fälle von MHN<sup>83</sup>).

| <b>Gerinnungsfaktor</b> | <b>Gerinnungsaktivität am 1. Lebenstag</b> | <b>Gerinnungsaktivität des Erwachsenen</b> | <b>Angleichung an Erwachsenenwerte</b> |
|-------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|
| <b>Prothrombin</b>      | 45% (± 15)                                 | 100%                                       | nach einigen Monaten                   |
| <b>Faktor VII</b>       | 56% (± 40)                                 | 100%                                       | nach einigen Wochen                    |
| <b>Faktor IX</b>        | 28% (± 8)                                  | 100%                                       | nach einigen Monaten                   |
| <b>Faktor X</b>         | 56% (± 16)                                 | 100%                                       | nach einigen Wochen                    |

**Tab.4.2** Aktivitäten ausgewählter Gerinnungsfaktoren bei reifen Neugeborenen im Vergleich zu Erwachsenen und Anpassungszeitraum [nach Biesalski, 1997]

Auch der VK-Speicher der Neugeborenenleber ist begrenzt, Messergebnisse von GUILLAUMONT et al. von insgesamt n=18 Säuglingen (geboren zwischen 26. und 40. Schwangerschaftswoche und Geburtsgewicht zwischen 1000 und 3240g) ergaben für 4 Säuglinge ohne VK - Supplementation 0,1-0,9 µg Gesamt-VK, die Erwachsenenleber enthält im Vergleich dazu 1,7 – 38,3 µg, der Gehalt streut individuell sehr stark, wie bereits in anderen Untersuchungen gezeigt<sup>50, 101</sup>.

Menachinonreserven konnten nicht detektiert werden, es handelte sich rein um VK<sub>1</sub> Reserven bei den untersuchten Säuglingen.<sup>50</sup> Die Zusammensetzung der gespeicherten VK-Reserven beim Erwachsenen gestalten sich gänzlich anders, hier setzt sich der hepatische VK-Speicher zu 90% aus MK und 10% Phyllochinon zusammen<sup>101</sup> (siehe auch Kapitel 3.1.3). Von den 14 Neugeborenen erhielten 6 oral und 8 intravenös 2mg Konakion®, alle 18 erhielten Frauenmilch und wurden nach ihrem Tod untersucht (alle verstarben innerhalb der ersten 8 Tage, aufgrund von Chromosomenanomalien, Erkrankungen der Hyalinmembrane, Infektionen, etc.), dazu wurde die ganze Leber 12-24h postmortem entnommen, gewogen und bis zur Probenextraktion und -messung bei -20°C gelagert. Da es sich bei den untersuchten Säuglingen um sehr kranke Neugeborene handelte, sind die Ergebnisse für gesunde reifgeborene nicht repräsentativ. Daher geben auch die Autoren für die weite Streubreite an Speicherwerten starke individuelle Unterschiede, abhängig vom Gestationsalter und deren Gesundheit (Fähigkeit gestillt zu werden) an, und merken an, dass gesunde reifgeborene Säuglinge relativ hohe Serum- und Leberreserven aufweisen. Die Effektivität der VKP aber, konnte bei den untersuchten Säuglingen nachgewiesen werden, denn die hepatischen VK<sub>1</sub>- Konzentrationen, innerhalb weniger als 24h detektiert, waren sehr hoch 62,8 – 93,5 µg/g. Zur Überprüfung der Effektivität des Vitamin K Zyklus wurden die Vitamin K Epoxid Werte gemessen, da dieser Stoffwechselschritt mit der  $\gamma$ -Carboxylierung und damit der Aktivierung der Gerinnungsfaktoren assoziiert ist. Die Vitamin K Epoxid Werte waren ebenfalls hoch. Auffällig ist, dass bereits nach 48h der mittlere Leberspeicher auf 8,4 µg/g gesunken ist und sich nach 5 Tagen wieder auf dem ursprünglichem Niveau einpendelte, bis auf einen Säugling, der nach 5 Tagen immer noch 112 µg/g VK<sub>1</sub> Reserve aufwies.<sup>50</sup> Dies entspricht dem Abbau und der Ausscheidung im Erwachsenenorganismus, wo aufgrund der geringen Zirkulationsmengen und Speicherkapazitäten Phyllochinon sehr schnell wieder vom Körper abgegeben wird (s. Kapitel 3.1.4).

Die VK-Reserven des Neugeborenen sind in jedem Fall knapp bemessen und anfällig auf Störungen, erstaunlicherweise aber liegt der Speicher überwiegend in Form von VK<sub>1</sub> vor, im Gegensatz zum Erwachsenen.

#### **4.2.2 VK Versorgung des gestillten Säuglings über die MM**

Selbst über die Muttermilch, die das Neugeborene in seinen unterschiedlichen Entwicklungsphasen bedarfsorientiert mit Nährstoffen, Immunglobulinen, etc.

versorgt, wird der Säugling nur gering mit VK versorgt. Allerdings ist es möglich, den VK-Gehalt der Muttermilch sowohl durch VK reiche Ernährung als auch durch Supplementation zu steigern. Wobei sie bei phyllochinonreicher Ernährung bis zu doppelt so viel VK enthält als bei herkömmlicher Ernährungsform<sup>131</sup>, während mit hoher VK-Supplementation bis über 30fache VK-Konzentrationen in MM erreicht werden<sup>111</sup>. Eine unsubstituierte, stillende Mutter gibt pro Tag 0,8 – 2,0 µg VK über ihre Milch an den Säugling ab, ein Bruchteil dessen, was sie täglich an VK aufnimmt (in den USA wird die tägliche Aufnahme von Erwachsenen auf 60 – 160 µg/d geschätzt, die tägliche Aufnahme von älteren holländischen Frauen wird auf 150 – 250 µg/d geschätzt). Sowohl Kolostrum als auch reife Frauenmilch enthielten in den Messungen von THIJSEN et al. konstante Phyllochinonkonzentrationen, nur die transitorische Milch enthielt etwas weniger VK<sub>1</sub> als die reife Frauenmilch. Besonders bemerkenswert ist, dass Frauenmilch bedeutende Mengen MK-4 enthält, was vermutlich auf Umwandlungsprozesse aus Nahrungsphyllochinon zurückzuführen ist, im Kolostrum beispielsweise macht MK-4 30 – 40% der VK-Konzentration aus<sup>110</sup>, im Vergleich dazu nehmen Erwachsene nur ca. 10% VK inform von MK (hauptsächlich MK-5 bis MK-9) über die Nahrung auf<sup>101</sup>. Offensichtlich ist das VK<sub>2</sub> in Form von MK-4 für den Säugling von besonderer Bedeutung in dieser Entwicklungsphase. Beim Erwachsenen wurden besonders hohe Konzentrationen an MK-4 in extrahepatischen Geweben gemessen, wie im Gehirn, wo es eine bedeutende Funktion in der Biosynthese von Lipiden myelinisierter Zellen einnimmt (siehe auch Kapitel 3.2). Aber auch in den α-Zellen des Pankreas dürfte MK-4 unabhängig von Carboxylierungsreaktionen eine wichtige Funktion übernehmen, darüberhinaus in der Niere und weniger, aber nennenswert in Knochen. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass in den genannten Organen ein erhöhter Bedarf beim Säugling besteht, wie z.B. im Gehirn, diese Daten müssten jedoch speziell auf ihre Bedeutung für den Neugeborenenmetabolismus überprüft werden, da im VK-Stoffwechsel (oben ersichtlich) grundlegend unterschiedliche Verhältnisse zwischen dem Erwachsenen und dem Neugeborenen vorliegen.

Der bedeutende MK-4 Anteil des VK-Gehalts der MM und die Anreicherung von Säuglingsanfangsnahrung mit Phyllochinon als alleinige VK-Form lässt natürlich die Frage aufkeimen, ob für das Neugeborene Nährstoff- bzw. Entwicklungsdefizite entstehen könnten, oder ob das Neugeborene bereits metabolisch so weit in der Lage ist, Phyllochinon zu MK-4 umzuwandeln, wozu würde sich die MM aber ansonsten



mit MK-4 anreichern? Eine Anreicherung von Säuglingsanfangsnahrung mit MK-4 als ernährungsphysiologisch sinnvolle Maßnahme bedarf aufgrund der vorliegenden Daten in jedem Fall einer Überprüfung und Bewertung.

#### **4.2.3 Plazentagängigkeit und Mutagenität**

Die VK<sub>1</sub>-Plasmakonzentration von gesunden Erwachsenen beträgt 0,26ng/ml, von Schwangeren kurz vor der Entbindung 0,20ng/ml, im Nabelschnurblut von gesunden Neugeborenen konnte, selbst nachdem die Mütter kurz vor der Geburt 1mg VK<sub>1</sub> i.v. erhielten, nur bei 4 von 6 Neugeborenen ein geringer Anstieg von VK<sub>1</sub> im Nabelschnurblut detektiert werden, was auf die geringe Plazentagängigkeit von VK<sub>1</sub> in dieser Stoffwechselphase zurückzuführen ist<sup>100</sup>. Dass die Plazenta die Fähigkeit besitzt, VK in unterschiedlichen Mengen dem Föten zur Verfügung zu stellen, wurde von NISHIGUCHI et al. gezeigt. Die Plasmakonzentration von VK<sub>1</sub> im Nabelschnurblut Neugeborener entspricht etwa 1/10 derjenigen der Mutter.

Bemerkenswert ist, dass auch die Konzentration der anderen fettlöslichen Vitamine, wie Vitamin E, D und A niedriger ist als im mütterlichen Plasma.<sup>100</sup> Dass diese fettlöslichen Vitamine auf niedrigerem Konzentrationsniveau gehalten werden, gibt Grund zu weiteren Überlegungen. 1,25 Dihydroxyvitamin D beispielsweise ist nicht nur auf seine regulierende Wirkung in der Kalzium und Phosphathomöostase in Knochen und anderen Geweben gut untersucht, es dürfte darüber hinaus Funktion als Promotor zellulärer Differenzierung von Myoblasten zu Myotuben mittels dem sogenannten Vitamin D Rezeptor VDR haben<sup>46</sup>.

Es besitzt damit genregulatorische Eigenschaften, da es an den VDR bindet, einen Kernrezeptor NR, der als Transkriptionsfaktor fungiert, d.h. erst durch Bindung seines Liganden (Vitamin D) an DNA bindet und die damit die Transkription eines oder mehrerer Gene unterdrücken oder veranlassen kann. Viele Hormone geben auf diese Weise, über Kernrezeptoren, das Signal zur Produktion bestimmter Proteine, es existieren aber auch Kernrezeptoren für Fettsäuren, Gallensäuren, lipophile Xenobiotika, usw. Jüngst wurde auch über Vitamin D/VDR mediierte Autophagiehömostase, insbesondere Makroautophagie berichtet, die an Entzündungsprozessen und Infektionen regulatorisch beteiligt ist.<sup>123</sup>

Es ist augenscheinlich, dass insgesamt fettlösliche Vitamine die Fähigkeit besitzen, an spezifische Kernrezeptoren binden zu können, wie z.B. Vitamin A, das mittels seinem aktiven Metaboliten Retinsäure über mehrere Retinsäurerezeptoren (RAR $\alpha$ , RAR $\beta$

und RAR $\gamma$ ) das Signal zur Transkription modulieren kann. Retinsäure wird in den Hepatozyten über CYP26A1 verstoffwechselt, CYP26A1 selbst reguliert die zelluläre Konzentration von Retinsäure, die an der Regulation der Genexpression in Embryo- und Erwachsenenengewebe beteiligt ist.<sup>110</sup>

Aber auch Vitamin E fungiert als ein Ligand des Kernrezeptors pregnane X receptor PXR. Die Hauptaufgabe des PXR besteht in der Erkennung von toxischen, körperfremden Substanzen (Xenobiotika) und der Regulation der Expression von Proteinen zu deren Entgiftung und Clearance, PXR dürfte vermutlich sogar ein Schlüsselregulator im xenobiotischen Metabolismus sein, der einige CYP Oxidationssysteme regulieren kann, um VE enzymatisch zu  $\omega$ -hydroxylieren wie z.B. CYP3A und CYP4F2. Über diese beiden Enzyme wird aber nicht nur spezifisch der VE Metabolismus initiiert, sondern durch exprimierte CYP3A und CYP4F2 kann auch Vitamin K<sub>1</sub>  $\omega$ -hydroxyliert werden.<sup>10, 112</sup>

Die Fähigkeit von isoprenoiden Verbindungen, PXR zu aktivieren, scheint von der Sättigung der Seitenkette abhängig zu sein, MK-4 mit einer ungesättigten Seitenkette kann PXR stärker aktivieren, als Moleküle mit gesättigten Seitenketten.<sup>100</sup> Aber auch die Länge der isoprenoiden Seitenkette von VK<sub>2</sub>-Analoga dürfte die Transkriptionsaktivität der Zielgene direkt beeinflussen.<sup>108</sup>

Der größte Anteil an CYP befindet sich in der Leber, aber auch die Niere enthält einzelne Isoformen in größerer Menge, die Bildung von CYP ist beeinflussbar, z.B. Hypertonie, Entzündungen oder Pharmaka können die Expression einzelner Isoformen steigern, so wundert es nicht, dass Warfarin mit CYP4F2 interagiert.<sup>112</sup>

Welche biochemische und funktionelle Bedeutung hat VE als Ligand von PXR und CYPs für den menschlichen Körper? Eine überhöhte VE Aufnahme gilt als relativ untoxisch (toxischer Endpunkt: Störung der Blutgerinnung), daher nahm man bisher an, dass VE Supplemente aufgrund (z.T. unzureichend bekannter) Abbaumechanismen zur Ausscheidung kein erhöhtes Risiko darstellen. TRABER widmete sich der Frage der Mechanismen von unerwünschten Wirkungen einer überhöhten Vitamin E Disposition, aufgrund einiger Metaanalysen, die ergaben, dass VE-Supplemente das Mortalitätsrisiko signifikant steigern. Und kam zu dem Ergebnis, dass der VE Metabolismus selbst regulatorisch an seiner Detoxifikation über PXR und CYPs beteiligt ist, und entgegen den Erwartungen wird bei Stimulation von PXR oder CYP-abhängigen Metabolismen der VE-Metabolismus reduziert und

nicht gesteigert. VE werde daher physiologisch nur in geringen Mengen gespeichert, um vermutlich möglichen toxischen und unerwünschten Wirkungen vorzubeugen, um damit als Mechanismus zur Verhütung von Akkumulation und damit VE-Intoxikation zu dienen.

Nach TRABER soll der VE Metabolismus ein Schlüsselmechanismus für die Bevorzugung von  $\alpha$ -Tocopherol, der Limitierung seiner Akkumulation und zur Bestimmung der zirkulierenden VE-Formen sein. Der Abbau von nicht- $\alpha$ -Tocopherolen (auch Tocotrienolen) über CYPs läuft wesentlich schneller und umfangreicher ab, als der von  $\alpha$ -Tocopherol. Die CYP4F2 Aktivität wird in Bezug auf  $\alpha$ -Tocopherol relativ limitiert, es wird bevorzugt zurückgehalten, bzw. akkumuliert, und  $\alpha$ -Tocopherol selbst stimuliert über CYP4F2 die  $\omega$ -Hydroxylierung von nicht-  $\alpha$ -Tocopherolformen des VE. (Hierbei sei erwähnt, dass Nicht- $\alpha$ -Tocopherole antioxidativ wirksamer sind als das  $\alpha$ -Tocopherol. Wenn auch die Bedeutung des VE allgemein heute in seiner antioxidativen Funktion gesehen wird, so besitzen die verschiedenen VE Formen darüber hinaus unterschiedliche biologische Aktivität.)

CYP4F2 ist nicht spezifisch für VE, es besitzt noch andere Liganden, wie z.B. VK<sub>1</sub>. Interessant dabei ist, dass die CYP4 Familie die Expression von Eicosanoiden im Entzündungsgeschehen reguliert und bestimmte Pharmaka metabolisiert (z.B. Warfarin).

Die Produkte des VE Abbaus sind die sogenannten  $\alpha$ - $\delta$  CEHCs (Carboxyethyl Hydroxychroman), dabei wird die Seitenkette in mehreren Reaktionsschritten gekürzt, der Chromanring bleibt aber unoxidiert. Die CEHCs werden im Plasma transportiert und über Urin und Galle ausgeschieden.

Vielleicht ist vor diesem biochemischen Hintergrund der positive Effekt der VE-Supplementation auf den Rückgang venöser Thromboembolien aufgrund der Interaktion mit dem VK-Metabolismus zu erklären? VK<sub>1</sub> und VE sind beide in den metabolischen PXR Abbauweg (das auch die extrazelluläre Matrix und Kollagenbildung reguliert) integriert, die Seitenketten von beiden Vitaminen werden  $\omega$ -hydroxyliert und  $\beta$ -oxidiert. Möglicherweise interagiert VE bei der Umwandlung von VK<sub>1</sub> zu MK-4 für die extraheptischen Gewebe. Hohe Dosen VE mögen positiv gesehen als Antikoagulans ein niedrigeres Thromboserisiko bewirken, die unerwünschten Wirkungen hoher VE-Dosen bedürfen jedenfalls weiterer Untersuchungen.

Umgekehrt besteht natürlich für Risiken hoher Dosen von VK in Bezug auf die über Kernrezeptoren modulierte Regulation Klärungsbedarf, die unabhängig von Carboxylierungsreaktionen abläuft, auch im Zusammenhang mit Wechselwirkungen

mit dem VE-Metabolismus und dem VD-Metabolismus, die offensichtlich miteinander interagieren.

Der enzymatische Abbaumechanismus von K-Vitaminen wurde im Detail nicht untersucht, gestützt werden die Theorien darum aus Ergebnissen von Untersuchungen strukturell ähnlicher Verbindungen.<sup>101</sup> Vitamin K (aber auch VE) dürfte in höheren Konzentrationen durch Binden und Aktivieren von PXR verschiedene CYP Isoformen regulieren, wie z.B. CYP3A und CYP4F2, außerdem gibt es Studien zum Zusammenhang zwischen VK und Immunantwort und Entzündungsgeschehen, und VK in carboxylierungsunabhängigen Redoxreaktionen (siehe dazu Funktionen von VK in Kapitel 3.2).

Auch MK-4 kann an PXR binden, PXR hat zwar eine Affinität an eine Vielzahl von Liganden, es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass wenige Gene nur durch MK-4 reguliert werden, nicht aber von anderen PXR- Liganden und auch nicht von Phyllochinon oder anderen Menachinonen. Diese Gene werden nicht durch carboxylierungsabhängige Prozesse gesteuert sondern vermutlich durch einen Mechanismus im Zusammenhang mit Proteinkinase A, vielleicht auch von einem anderen MK-4 spezifischen Rezeptor.

Wird das Neugeborene mit niedrigen VK-Konzentrationen im Plasma und durch den geringen Speicher vor toxischen, unerwünschten Wirkungen geschützt, so wie von Traber für VE angenommen? Möglicherweise ist der „physiologischen VK-Mangel“ die Konsequenz einer engen Kontrolle der VK-Spiegel für eine regulierte Embryogenese, ein evolutionärer Vorteil, aus dem das sehr geringe Risiko resultiert, einen Morbus hämorrhagicus neonatorum zu erleiden (auf 100 000 Neugeborene ohne VKP 1,62 Fälle von MHN) oder daran zu sterben oder schwerwiegend geschädigt zu sein (1,02/ 100 000 ohne VKP erleiden einen späten MHN, zu 30-60% intracraniell, d.h. schwerwiegend<sup>83,109</sup>). Könnte das neugeborene Gewebe, das besonders verletzlich bzw. ungeschützt ist, in der Phase rapiden Wachstums und Entwicklung so vor Mutagenese geschützt werden? Daher interessiert die biologische Plausibilität einer potentiellen Kanzerogenität bzw. Mutagenität von sehr hohen VK-Plasmakonzentrationen.

Die VK-Konzentration im Blutplasma Neugeborener nach einer i.m. VKP entspricht 12 – 24h nach Verabreichung der ca. 500fachen physiologischen Konzentration von gesunden, gestillten Neugeborenen. In humanen Lymphozyten aus peripherem Blut und Blut aus plazentaren Oberflächengefäßen von n=10 Frauen (entnommen zum

Zeitpunkt der Geburt, bzw. während der Sectio von 10 gesunden, reifentwickelten Neugeborenen) konnte *in vitro* nach VK<sub>1</sub> Gabe ein dosisabhängiger Schwesternchromatidaustausch (SCE, Indikator für mutagene Aktivität) festgestellt werden. Bei n=5 fötalen Schafen resultierte *in vivo* nach i.v. Gabe von 1mg VK<sub>1</sub> ebenfalls ein Anstieg an SCE, was in dieser Studie signifikant für die Mutagenität des Präparats spricht, denn es wurde konventionelles Konakion® (cremophorhaltig) verwendet. Wie sich VK<sub>1</sub> selbst auswirkt, bleibt zu mutmaßen<sup>58</sup>.

Dieselben Autoren untersuchten in einer weiteren Studie<sup>57</sup> im Tierversuch die Rolle von VK<sub>1</sub> in der Tumorgenese. VK<sub>1</sub> steigerte die Tumorgenese von Benzpyren-injizierten Mäusen, während VK<sub>1</sub> Mangel und Warfarin die Tumorbildungsrate senkten. Es wird von den Autoren damals vermutet, dass VK<sub>(1)</sub> regulatorische Funktion im Benzpyrenmetabolismus und möglicherweise anderen Enzymen des zellulären Redoxsystems besitzt. Bis zum heutigen Zeitpunkt konnte die Interaktion spezieller oxidativer Enzyme (CYP3A und CYP4F2) mit Vitamin K bestätigt werden, die physiologische Bedeutung von hohen VK Konzentrationen auf CYPs, deren Kernrezeptoren und die Regulation der Genexpression wird sich in künftigen Untersuchungen zeigen.

Zum einen könnte ein eng kontrollierter VK- Spiegel im fötalen und neugeborenen Metabolismus eine Konsequenz daraus sein, dass er möglicherweise so vor Mutagenese geschützt wird, in einer Entwicklungsphase rapider Zellproliferation, um eine normale Embryogenese und kindliche Entwicklung zu bewerkstelligen. In aktuellen Studien konnte nachgewiesen werden, dass das VKD Gas6 über die Bindung an Rezeptor-Tyrosinkinasen die Zellproliferation und Replikation beeinflussen (siehe Kapitel 3.2.1). Zum anderen könnte eine insgesamt verzögerte Ossifizierung im ersten Lebensabschnitt der menschlichen Entwicklung das Wachstum des Großhirns und den viel später erfolgenden Fontanellenschluss im Säuglings- und Kindesalter ermöglichen. Die VKD Gerinnungsfaktoren Faktor VIIa und X beispielsweise, haben Einfluss auf Zellwachstum und –differenzierung im Knochengewebe, da sie in der Lage sind, die Expression des hCYR61 und CTGF genetisch zu modulieren und damit als Signalgeber im Knochengewebe zu fungieren (siehe Kapitel 3.2.1).

## 5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war zu prüfen, inwieweit aktualisierte, wissenschaftliche Daten zum VK und der VKDB eine generelle VKP für alle gesunden Neugeborenen hinsichtlich der Effizienz in den westlichen Industrieländern rechtfertigen. Ohne VKP beträgt die aktuelle Inzidenz laut der American Academy of Pediatrics 0,25-1,7%, die Zahlen beruhen allerdings auf älteren Studien, mit uneinheitlicher Definition des MHN und nicht repräsentativen Studiendesigns. Verwertbare, aktuellere Daten dazu lieferten die Untersuchungen von McNINCH, die eine Inzidenz des MHN ohne VKP von 1,62/100 000 ergaben. Unterschieden werden 3 Formen vom MHN (heute VKDB) der frühe (<24h post partum), der klassische (1. – 7. Lebenstag) und späte (2. – 8. Lebenswoche, selten bis zum 6. Monat) MHN. Risikofaktoren für ein erhöhtes Blutungsrisiko sind ausschließliches Stillen, kranke Säuglinge, wie z.B. mit Durchfallerkrankungen (bei voll gestillten Säuglingen) und cholestatischen Lebererkrankungen (z.B. cystische Fibrose, biliäre Atresien,  $\alpha$ 1-Antitrypsinmangel etc.), Frühgeborene und Säuglinge mit chirurgischen Eingriffen. Die Häufigkeit der klassischen VKDB beträgt 0,60/ 100 000 und der späten VKDB 1,02/ 100 000<sup>83</sup>. Aus repräsentativen Studien geht hervor, dass der klassische MHN heute selten ist und aufgrund seines Schweregrades zumeist von geringer klinischer Relevanz ist, die bei ersten Blutungssymptomen durch VK verhindert werden können. Späte Blutungen treten zwar sehr selten auf, es könnten aber aufgrund ihres Schweregrades einige Säuglinge sterben oder ernsthafte Spätschäden davontragen, da die späten Blutungen zu 30 – 60% intracraniell verlaufen. Es hat sich gezeigt, dass die i.m. VKP gegenüber der oralen VKP in der Lage ist, das Auftreten der späten VKDB effektiv zu vermindern. Aufgrund einiger Studien zum Zusammenhang zwischen parenteraler VKP und Krebs im Kindesalter, u.a. von GOLDING et al. ist das Krebsrisiko bis heute nicht auszuschließen, dieser Effekt konnte auf orale VK Gabe nicht beobachtet werden, vielleicht weil VK applikationsabhängig metabolisiert wird. Ziel dieser Arbeit war auch das Hinterfragen möglicher biologischer Grundlagen zur Mutagenität, unter Berücksichtigung neuer Erkenntnisse über VK als regulativer Signalgeber kernrezeptorgesteuerter Proteinexpression und epigenetischer Einflussgrößen. Aufgrund der vorliegenden geklärten und ungeklärten Daten scheint es berechtigt und eine Bürde, dass Eltern gesunder, gestillter Säuglinge nach umfassender und zeitgerechter Information durch den Arzt, bzw. die Ärztin eigenverantwortlich eine Entscheidung über die Durchführung und Art der VKP treffen.

## 6 Literatur

### Zeitschriften, Bücher

1. Aballi AJ, Banus VL, Lamerens S, Rozengvaig S. Coagulation Studies in the Newborn Period III. Hemorrhagic Disease of the Newborn. Archives of Pediatrics and Adolescent medicine 1959; 97: 524-48.
2. Arkonson JK, Von Bortel CJ (Hg.). Side effects of drugs annual 17. A worldwide yearly survey of new data and trends. Elsevier 1994.
3. Arkonson JK, Von Bortel CJ (Hg.). Side effects of drugs annual 18. A worldwide yearly survey of new data and trends. Elsevier 1995.
4. Arkonson JK, Von Bortel CJ (Hg.). Side effects of drugs annual 19. A worldwide yearly survey of new data and trends. Elsevier 1996.
5. Arkonson JK (Hg.). Side effects of drugs annual 21. A worldwide yearly survey of new data and trends. Elsevier 1998.
6. Arkonson JK (Hg.). Side effects of drugs annual 22. A worldwide yearly survey of new data and trends. Elsevier 1999.
7. Arkonson JK (Hg.). Side effects of drugs annual 23. A worldwide yearly survey of new data and trends. Elsevier 2000.
8. Arkonson JK (Hg.). Side effects of drugs annual 24. A worldwide yearly survey of new data and trends. Elsevier 2001.
9. Avilla E, Guarino V, Visciano C, Liotti F, Svelto M, Krishnamoorthy GP, Franco R, Melillo RM. Activation of Tyro3/Axl Tyrosine Kinase Receptors in Thyroid Cancer. Cancer Res 2011; 71:1792-1804.
10. Barone LM, Owen TA, Tassinari MS, Bortell R, Stein GS, Lian JB. Developmental expression and hormonal regulation of the rat matrix GLA protein (MGP) gene in chondrogenesis and osteogenesis. Journal of Cellular Biochemistry 1991; 46(4):351-65.
11. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2001.
12. Beller FK. Die Blutungserkrankungen des Neugeborenen. Archiv für Gynäkologie, München, 1957; 189: 205-8
13. Biesalski HK, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin HB (Hg.): Ernährungsmedizin. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1995.
14. Biesalski HK, Schrezenmeir J, Weber P, Weiß HE. Vitamine. Physiologie, Pathophysiologie, Therapie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1997.
15. Biesalski HK, Köhrle J, Schümann K (Hg.). Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe. Prävention und Therapie mit Mikronährstoffen. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2002.
16. Booth SL, Tucker KL, Honglei C, Hannan MT, Gagnon DR, Cupples LA, Wilson PWF, Ordoas J, Schaefer EJ, Dawson-Hughes B, Kiel DP. Dietary vitamin K intakes are associated with hip fracture but not with bone mineral density in elderly men and women. Am J Clin Nutr 2000; 71:1201-8.
17. Campbell NA. Biologie, Heidelberg: Spektrum Verlag, 1998.

18. Canfield LM, Davy LA, Thomas GL. Anti-oxidant/ pro-oxidant reactions of Vitamin K. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1985; 128: 211-219.
19. Cojocel C, Novotny L, Vachalkova A. Mutagenic and carcinogenic potential of menadione. *Neoplasma* 2006; 53(4):316-23.
20. Committee on Nutrition, American Academy of Pediatrics. Vitamin K compounds and the water-soluble analogues. Use in Therapy and Prophylaxis in Pediatrics. *Pediatrics* 1961; 28:501-7.
21. Committee on Fetus and Newborn, American Academy of Pediatrics. Controversies Concerning Vitamin K and the Newborn. *Pediatrics* 2003; 112: 191-192.
22. Cornelissen EAM, Hirasing RA, Monnens LA. Prevalance of hemorrhages due to vitamin K deficiency in the Netherlands, 1992-1994. *Ned Tijdschr Geneesk* 1996; 140 (17):935-7.
23. Cornelissen EAM, Kollée LAA, van Lith TGPJ, Motohara K, Monnens LAH. Evaluation of a daily dose of 25µg Vitamin K<sub>1</sub> to prevent Vitamin K Deficiency in Breastfed Infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1993; 16: 301-305.
24. Cosemans JMEM, Van Kruchten R, Olieslagers S, Schurgers LJ, Verheyen FK, Munnix ICA, Waltenberger J, Angelillo-Scherrer A, Hoylaerts MF, Carmeliet P, Heemskerk JWM. Potentiating role of Gas6 and Tyro3, Axl and Mer (TAM) receptors in human and murine platelet activation and thrombus stabilization. *J Thromb Haemost* 2010; 8:1797-808.
25. DACH Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Frankfurt am Main: Umschau Braus, 2001.
26. DACH Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Frankfurt am Main: Umschau Braus, 2008.
27. Dukes MNG (Hg.). Side effects of drugs Annual I 1977. *Excerpta Medica*, 1977.
28. Dukes MNG (Hg.). Side effects of drugs Annual II 1978. *Excerpta Medica*, 1978.
29. Dukes MNG (Hg.). Side effects of drugs Annual 4 1980. *Excerpta Medica*, 1980.
30. Dukes MNG (Hg.). Side effects of drugs Annual 6 1982. *Excerpta Medica*, 1982.
31. Dukes MNG (Hg.). Side effects of drugs Annual 7 1983. *Excerpta Medica*, 1983.
32. Dukes MNG (Hg.). Side effects of drugs Annual 8 1984. *Elsevier*, 1984.
33. Dukes MNG (Hg.). Side effects of drugs Annual 9 1985. *Elsevier*, 1985.
34. Dukes MNG, Beeley L (Hg.), Side effects of drugs Annual 13 1989. *Elsevier*, 1989.
35. Dukes MNG, Beeley L (Hg.), Side effects of drugs Annual 14 1990. *Elsevier*, 1990.
36. Dukes MNG, Arkonson JK (Hg.). Side effects of drugs Annual 15 1991. *Elsevier*, 1991.
37. Dukes MNG, Arkonson JK (Hg.). Side effects of drugs Annual 16 1992. *Elsevier*, 1992.
38. Ebermann R, Elmadfa I. *Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung*. Wien: Springer Verlag, 2008.
39. Ekelund H, Finnström O, Gunnarskog J, Källén B, Larsson Y. Administration of vitamin K to newborn infants and childhood cancer. *BMJ* 1993; 307: 89-91.



40. Elmadfa I, Leitzmann C. Ernährung des Menschen, Stuttgart: Eugen Ulmer, 2004.
41. Elmadfa I, Fritzsche D. Die große GU Vitamin und Mineralstoff Tabelle. Gräfe und Unzer, 2001.
42. Elmadfa I, Freisling H, König J, Blachfellner J, Cvitkovich-Steiner H, Genser D, Grossgut R, Hassan-Hauser C, Kichler R, Kunze M, Majchrzak D, Manafi M, Rust P, Schindler K, Vojir F, Wallner S, Zilberszac A. Österreichischer Ernährungsbericht. Institut für Ernährungswissenschaften Wien, 2003.
43. Feskanich D, Weber P, Willet WC, Rockett H, Booth SL, Colditz GA. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:74-9.
44. Friedrich W. Handbuch der Vitamine, München: Urban & Schwarzenberg, 1987.
45. Gaetgens G. Das Vitamin K in der Physiologie und Pathologie der Frau und des Neugeborenen. Leipzig: Georg Thieme Verlag, 1946.
46. Garcia LA, King KK, Ferrini MG, Norris KC, Artaza JN. 1,25(OH)<sub>2</sub>Vitamin D<sub>3</sub> Stimulates Myogenic Differentiation by Inhibiting Cell Proliferation and Modulating the Expression of Promyogenic Growth Factors and Myostatin in C2C12 Skeletal Muscle Cells. *Endocrinology* 2011; 152 (8):1-11.
47. Gilloteaux J, Jamison JM, Neal DR, Loukas M, Doberzstyn T, Summers JL. Cell damage and death by autophagy in human bladder (RT4) carcinoma cells resulting from treatment with ascorbate and menadione. *Ultrastructural Pathology* 2010; 34(3): 140-60.
48. Golding J, Greenwood K, Birmingham K, Mott M. Childhood cancer, intramuscular vitamin K, and pethidine given during labour. *BMJ* 1992; 305:341-6.
49. Goralczyk R. Beta-carotene and lung cancer in smokers: review of hypotheses and status of research. *Nutr Cancer* 2009; 6: 767-74.
50. Guillaumont M, Sann L, Leclercq M, Dostalova L, Vignal B, Frederick A. Changes in Hepatic Vitamin K<sub>1</sub> Levels After Prophylactic Administration to the newborn. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1993; 16:10-4.
51. Hansen KN, Ebbesen F. Neonatal Vitamin K Prophylaxis in Denmark: Three years` experience with oral administration during the first three months of life compared with one oral administration at birth. *Acta Paediatr* 1996; 85: 1137-9.
52. Hasselt van PM, de Koning TJ, Kvist N, de Vries E, Lundin CR, Berger R, Kimpen JL, Houwen RH, Jorgensen MH, Verkade HJ. Prevention of Vitamin K deficiency bleeding in breastfed infants: lessons from the Dutch and Danish biliary atresia registries. *Pediatrics* 2008 Apr; 121 (4): 857-63.
53. Heldt HW. Pflanzenbiochemie. Heidelberg Berlin: Springer Verlag, 2000.
54. Hurrelmann K. Lehrbuch Prävention und Gesundheitsförderung. 3. Aufl., Bern: Verlag Huber, 2010.
55. Hurtado B, Abasolo N, Munoz X, Garcia N, Benavente Y, Rubio F, Garcia de Frutos P, Krupinski J, Sala N. Association study between polymorphisms in Gas6-TAM genes and carotid atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2010; 104:592-8.
56. Isler O, Brubacher G. Fettlösliche Vitamine. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1982.

57. Israels LG, Walls GA, Ollmann DJ, Friesen E, Israels ED. Vitamin K as a Regulator of Benzo(a)pyrene Metabolism, Mutagenesis, and Carcinogenesis. Studies with Rat Microsomes and Tumorigenesis in Mice. *J Clin Invest* 1983; 71:1130-40.
58. Israels LG, Friesen E, Jansen AH, Israels ED. Vitamin K<sub>1</sub> Increases Sister Chromatid Exchange in Vitro in Human Leukocytes and in Vivo in Fetal Sheep Cells: A possible Role for „Vitamin K Deficiency“ in the Fetus. *Pediatr Res* 1987; 22:405-8.
59. Jenny J, Gschwend E. Über die Blutungskrankheiten beim Neugeborenen. Geburtshilfe und Frauenheilkunde, Stuttgart, 1958; 18(1):36-45.
60. Jochims J, Schomerus E. Morbus haemolyticus und Morbus haemorrhagicus als Notfallsituationen beim Neugeborenen. *Medizinische Klinik, München*, 1959; 54:1528-32.
61. Kasper H. Ernährungsmedizin und Diätetik. 10. Aufl. München: Elsevier, 2004.
62. Klaus V, Hartmann T, Gambini J, Graf P, Stahl W, Hartwig A, Klotz LO. 1,4-Naphthoquinones as inducers of oxidative damage and stress signaling in HaCaT human keratinocytes. *Archives of Biochemistry & Biophysics* 2010, 496(2): 93-100.
63. Klebanoff MA, Read JS, Mills JL, Shiono PH. The risk of childhood cancer after neonatal exposure to vitamin K. *The New England Journal of Medicine* 1993; 329: 905-8.
64. Koch F. Blutungsübel bei Neugeborenen. *Klinische Wochenschrift, München*, 1956; 34(7-8):174-80.
65. Köhnlein T, Welte T.  $\alpha_1$ -Antitrypsinmangel. Pathogenese, Klinik, Diagnostik und Therapie. *Der Pneumologe* 2006; 3:340-8.
66. Kohl M. Neonatale Vitamin K- Prophylaxe. Wie groß ist das Risiko maligner Erkrankungen im Kindesalter? *Gynäkologie und Geburtshilfe* 1999; 4:154f.
67. Kolb E. Wirkstoff-Vademekum. Chemische und biologische Präparate in der Tierernährung. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1970.
68. Koller F. Das Vitamin K und seine klinische Bedeutung. Leipzig: Georg Thieme Verlag, 1941.
69. Kries von R. Oral versus intramuscular phytonadione: safety and efficacy compared. *Drug Safety* 1999; 21(1): 1-6.
70. Kries von R, Hachmeister A, Göbel U. Can 3 oral 2 mg doses of Vitamin K effectively prevent late Vitamin K deficiency bleeding? *Eur J Pediatr* 1999; 158: 183-6.
71. Kries von R, Göbel U, Maase B. Vitamin K deficiency in the newborn. *The Lancet* II 1985:728f.
72. Krüger T, Floege J. Matrix Gla Protein (MGP). *Nephrologie* 2010; 5:152-4.
73. Kullich W, Machreich K, Hawa G, Eichinger B, Klein G. Der Kalzifikationsmarker Matrix-Gla-Protein bei Patienten mit Hyperlipidämie. *Wien Med Wochenschr* 2003; 153(15-16):360-4.
74. Layer P, Rosien U(Hrsg.). *Praktische Gastroenterologie*. 3. Aufl., Urban und Fischer in Elsevier, 2008.

75. Lechner A, Schütze N, Siggelkow H, Seufert J, Jakob F. The Immediate Early Gene Product hCYR61 Localizes to the Secretory Pathway in Human Osteoblasts. *Bone* 2000; 27 (1):53-60.
76. Li J, Lin JC, Wang H, Peterson JW, Furie BC, Booth SL, Volpe JJ, Rosenberg PA. Novel role of vitamin k in preventing oxidative injury to developing oligodendrocytes and neurons. *The Journal of Neuroscience* 2003; 23(13):5816-26.
77. Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC. *Biochemie und Pathobiochemie*. 8. Aufl., Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2007.
78. Lüllmann H, Mohr K, Hein L. *Pharmakologie und Toxikologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2010.
79. Malia RG, Preston FE, Mitchell VE. Evidence against Vitamin K Deficiency in Normal Neonates. *Thromb Haemost* 1980; 44(3):159-60.
80. Marquardt H, Schäfer S (Hg.). *Lehrbuch der Toxikologie*. 2. Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH 2004.
81. Matzno S, Yamaguchi Y, Akiyoshi T, Nakabayashi T, Matsuyama K. An attempt to evaluate the effect of vitamin K<sub>3</sub> using as an enhancer of anticancer agents. *Biological & pharmaceutical bulletin* 2008; 31(6):1270-3.
82. McMillan DD, Grenier D, Medaglia A. Canadian Paediatric Surveillance Program confirms low incidence of hemorrhagic disease of the newborn in Canada. *Paediatr Child Health* 2004; 9(4):235-8.
83. McNinch AW, Tripp JH. Haemorrhagic disease of the newborn in the British Isles: two year prospective study. *BrMedJ* 1991; 303: 1105 -9.
84. McNinch AW, Busfield A, Tripp J. Vitamin K deficiency bleeding in Great Britain and Ireland: British Paediatric Surveillance Unit Surveys, 1993-94 and 2001-02. *Arch Dis Child* 2007; 92: 759-66.
85. Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer-Korting M. *Mutschler Arzneimittelwirkungen*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2001.
86. Nishiguchi T, Matsuyama K, Kobayashi T, Kanayama N, Terao T, Maeda M, Ibara S. Variation of Des-Gamma-Carboxyprothrombin (PIVKA II) Levels in Cord blood throughout Gestation. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 2001; 27:87-92.
87. Okayasu H, Ishihara M, Satoh K, Sakagami H. Cytotoxic activity of vitamins K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub> and K<sub>3</sub> against human oral tumor cell lines. *Anticancer Research* 2001; 21(4A):2387-92.
88. Peter I, Crosier MD, Yoshida M, Booth SL, Cupples LA, Dawson-Hughes B, Karasik D. Associations of ApoE gene polymorphisms with bone mineral density and fracture risk: a meta analysis. *Osteoporose Int* 2011; 22:1199-1209.
89. Pietrzik K, Golly I, Loew D. *Handbuch Vitamine*. Für Prophylaxe, Beratung und Therapie. 1.Aufl. München: Urban und Fischer in Elsevier, 2008.
90. Pittner H, Jasek W, Wicho H. *Austria-Codex*. Fachinformation 2010/2011. Wien: Österreichische Apotheker Verlagsgesellschaft, 2010.
91. Potter EL. The effect on infant mortality of vitamin K administered during labor. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1945; 50: 235-247.

92. Pschyrembel W, Zink C, Dornblüth O (Hg.). Klinisches Wörterbuch. 262. Aufl. Berlin: de Gruyter, 2011.
93. Reinhardt D. Therapie der Krankheiten im Kindes- und Jugendalter. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2007.
94. RÖMPP Lexikon Lebensmittelchemie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2006.
95. Ronden JE, Groenen-van Dooren MMCL, Hornstra G, Vermeer C. Modulation of arterial thrombosis tendency in rats by vitamin K and its side chains. *Atherosclerosis* 1997; 132:61-7.
96. Rost SE. Molekulare Ursachen VK abhängiger Gerinnungsstörungen. Dissertation. Würzburg: Julius Maximilians Universität, 2005.
97. Sanford HN, Kostalik M, Blackmore B. Prothrombin studies on the blood of the premature infant and the value of vitamin K therapy. *American journal of diseases of children* 1949; 78:686.
98. Schubiger G, Berger TM, Weber R, Bänziger O, Laubscher B, Swiss Pediatric Surveillance Unit. Prevention of vitamin K deficiency bleeding with oral mixed micellar phylloquinone: results of a 6-year surveillance in Switzerland. *Eur J Pediatr* 2003 Dec; 162 (12): 885 – 8.
99. Schurgers LJ, Cranenburg, ECM, Vermeer C. Matrix Gla protein: The calcification inhibitor in need of vitamin K. *Thromb Haemost* 2008; 100(4):593-603.
100. Shearer MJ, Barkhan P, Rahim S, Stimmler L. Plasma vitamin K<sub>1</sub> in mothers and their newborn babies. *The Lancet* 1982; 28: 460-1.
101. Shearer MJ, Newman P. Metabolism and cell biology of vitamin K. *Thromb Haemost* 2008; 100:530-47.
102. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Broze G, Fedi S. A meta-analysis of potential risks of low level of protein Z for diseases related to vascular thrombosis. *Thromb Haemost* 2010; 103:749-756.
103. Song X, Wang H, Logsdon CD, Rashid A, Fleming JB, Abbruzzese JL, Gomez H, F, Evans DB, Wang H. Overexpression of Receptor Tyrosine Kinase Axl Promotes Tumor Cell Invasion and Survival in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer* 2001; 117:734-43.
104. Souci SW, Fachmann W, Kraut H. Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwert Tabellen. 6. Aufl. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 2000.
105. Stepp W, Kühnau J, Schroeder H. Die Vitamine und ihre klinische Anwendung. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1944.
106. Stötzer H. Toxische Arzneimittelwirkungen. Grundlagen, Systematik, Experimente. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1995.
107. Suhara Y, Hirota Y, Nakagawa K, Kamao M, Tsugawa N, Okano T. Design and synthesis of biologically active analogues of vitamin K<sub>2</sub>: Evaluation of their biological activities with cultured human cell lines. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 2008; 16:3108-3117.
108. Suhara Y, Watanabe M, Motoyoshi S, Nakagawa K, Wada A, Takeda K, Takahashi K, Tokiwa H, Okano T. Synthesis of New Vitamin K Analogues as Steroid and Xenobiotic Receptor (SXR) Agonists: Insights into the Biological Role of the Side Chain Part of Vitamin K. *Journal of Medicinal Chemistry* 2011; 54(13):4918-22.

109. Sutor AH, von Kries R, Cornelissen EAM, McNinch AW, Andrew M. Vitamin K deficiency bleeding (VKDB) in infancy. *Thrombosis and haemostasis* 1999; 81:456-461.
110. Thatcher JE, Buttrick B, Shaffer SA, Shimshoni JA, Goodlett DR, Nelson WL, Isoherranen N. Substrate specificity and ligand interactions of CYP26A1, the human liver retinoic acid hydroxylase. *Molecular Pharmacology* 2011; 80:228-39.
111. Thijssen HHW, Drittij MJ, Vermeer C, Schoffelen E. Menaquinone-4 in breast milk is derived from dietary phylloquinone. *British Journal of Nutrition* 2002; 87: 219-26.
112. Traber MG. Regulation of xenobiotic metabolism, the only signalling function of  $\alpha$ -Tocopherol? *Mol Nutr Food Res* 2010; 54:661-8.
113. Tsukamoto K, Orimo H, Hosoi T, Miyao M, Yoshida H, Watanabe S, Suzuki T, Emi M. Association of bone mineral density with polymorphism of the human matrix Gla protein locus in elderly women. *J Bone Miner Metab* 2000; 18:27-30.
114. Usui Y, Tanimura H, Nishimura N, Kobayashi N, Okanoue T, Ozawa K. Vitamin K concentrations in the plasma and liver of surgical patients. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 846-52.
115. Van Doorm JM, Muller AD, Hemker HC. Heparin like Inhibitor, not Vitamin K Deficiency, in the newborn. *The Lancet* 1977; April: 852f.
116. Vermeer C, Theuvsen E. Vitamin K, osteoporosis and degenerative diseases of ageing. *Menopause international* 2011; 17:19-23.
117. Vietti TJ, Murphy TP, James JA, Pritchard JA. Observations on the prophylactic use of vitamin K in the newborn infant. *The Journal of Pediatrics* 1960; 56: 343-6.
118. Von Gruenigen VE, Jamison JM, Gilloteaux J, Lorimer HE, Summers M, Pollard RR, Gwin CA, Summers JL. The in vitro antitumor activity of vitamins C and K<sub>3</sub> against ovarian carcinoma. *Anticancer Research* 2003; 23(4):3279-87.
119. Wespi HJ. Orale Vitamin K – Prophylaxe bei Neugeborenen mit einer verdünnten Konaktionlösung. *Gynaecologia* 1959; 148:82-84.
120. Wiesner E. Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1970.
121. Willi H, Vest M, Käser O. Das hämatologische Verhalten der Frühgeborenen unter der Einwirkung hoher und niedriger Dosen von Vitamin K<sub>1</sub> (Konaktion). *Gynaecologia* 1959; 147:481-92.
122. Wright DA, Dawson R, Cutler HG, Orano-Dawson CE. Screening of natural product biocides for control of non-indigenous species. *Environmental technology* 2007; 28(3):309-19.
123. Wu W. Vitamin D, Vitamin D Receptor, and Macroautophagy in Inflammation and Infection. *Discovery Medicine* 2011; 59:325-35.
124. Yang L, Ge W, Yu F, Zhu H.: Impact of VKORC1 gene polymorphism on interindividual and interethnic warfarin dosage requirement – A systematic review and meta analysis. *Thrombosis Research* 2010; 125:159-66.
125. Zhang W, Negoro T, Satoh K, Jiang Y, Hashimoto K, Kikuchi H, Nishikawa H, Miyata T, Yamamoto Y, Nakano K, Yasumoto E, Nakayachi T, Mineno K, Satoh T, Sakagami H. Synergistic cytotoxic action of vitamin C and vitamin K<sub>3</sub>. *Anticancer Research* 2001; 21(5):3439-44.

## Internetquellen

126. BfR Bundesinstitut für Risikobewertung. Einsatz von Vitamin K in der Tierernährung 2004. Internet:  
[http://www.bfr.bund.de/cm/208/einsatz\\_von\\_vitamin\\_k\\_in\\_der\\_tierernaehrung.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/208/einsatz_von_vitamin_k_in_der_tierernaehrung.pdf) (Zugriff am 22.10.2010).
127. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH. Kontrollierte Futtermittel, gesunde Tiere, sichere Lebensmittel 2009. Internet:  
[http://www.ages.at/uploads/media/Futtermittel\\_Broschuere\\_2009.pdf](http://www.ages.at/uploads/media/Futtermittel_Broschuere_2009.pdf) (Zugriff am 20.10.2010).
128. EFSA European Food Safety Authority. Verordnung Nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben über Lebensmittel 2006. Internet:  
<http://www.efsa.europa.eu/en/nda/ndaclaims.htm> (Zugriff am 29.10.2010).
129. Ernährungskommission. Österreichische Gesellschaft für Kinder und Jugendheilkunde. Konsensuspapier Vitamin K Prophylaxe – Neugeborene 2008. Internet:  
[http://www.docs4you.at/content.Node/OEGKJ/Konsensuspapiere/konsensuspapier\\_der\\_oesterreichischen\\_gesellschaft\\_fuer\\_kin.php](http://www.docs4you.at/content.Node/OEGKJ/Konsensuspapiere/konsensuspapier_der_oesterreichischen_gesellschaft_fuer_kin.php) (Zugriff am 17.1. 2011).
130. EUROPA Zusammenfassungen der EU-Gesetzgebung 2010. Internet: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32006L0141:DE:NOT> (Zugriff am 17.11.2010).
131. Gesellschaft Anthroposophischer Ärzte in Deutschland. GAÄD-Leitlinie zum Vorgehen bei der Vitamin- K- Prophylaxe im Säuglingsalter 2007. Internet:  
[http://www.anthroposophischeaerzte.de/fileadmin/gaad/PDF/Aktuelles/Leitlinien/Leitlinie\\_Vit\\_K\\_21\\_1\\_07.pdf](http://www.anthroposophischeaerzte.de/fileadmin/gaad/PDF/Aktuelles/Leitlinien/Leitlinie_Vit_K_21_1_07.pdf) (Zugriff am 29.6.2011).
132. ÖGKJ Vorschlag zur Vitamin K-Prophylaxe bei Neugeborenen 2008. Internet:  
[http://www.docs4you.at/Content.Node/OEGKJ/Konsensuspapiere/konsensuspapier\\_der\\_oesterreichischen\\_gesellschaft\\_fuer\\_kin.php](http://www.docs4you.at/Content.Node/OEGKJ/Konsensuspapiere/konsensuspapier_der_oesterreichischen_gesellschaft_fuer_kin.php) (Zugriff am 18.11. 2010).
133. WHO. DIMDI Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information. Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme 10. Revision Version 2011. Internet:  
<http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlamtl2011/block-p50-p61.htm> (Zugriff am 24.1. 2011).

## Lebenslauf

**Gabriele Hermine Pfeffer** (geb. Amon)  
geboren am 2.8. 1980 in Scheibbs

### Schulausbildung

1986 – 1990 Besuch der Volksschule Oberndorf a.d. Melk  
1990 – 1994 Hauptschule Oberndorf a.d. Melk  
1994 – 1999 Bundesoberstufenrealgymnasiums Scheibbs  
mit Schwerpunkt Instrumentalmusik (Klavier, Gitarre und  
klassischer Gesang)  
Abschluss: Allgemeine Matura

### Studium

1999 – 2000 2 Semester Lehramtsstudium Katholische Religionspädagogik  
und PPP (Psychologie, Philosophie und Pädagogik)  
2000 – 2011 Diplomstudium Ernährungswissenschaften mit Schwerpunkt  
Lebensmitteltechnologie  
seit 2000 Lehramtsstudium Haushaltsökonomie und Ernährung und  
Biologie

### Berufserfahrung

Juli 1999 Betreuerpraktikum bei der Lebenshilfe  
Kemmelbach  
2001 - 2004 Zustelldienst der österreichischen Post AG in St.  
Pölten und Scheibbs  
Sommer 2002 OP und Ordinations – Assistenz in der  
chirurgischen Fachpraxis von Dr. Wimberger 1020 Wien  
Mai 2005 Rhetorikseminar mit Persönlichkeitstrainer Mag. Manfred  
Monsberger  
Sommer 2005 Lebensmittelverarbeitung und landwirtschaftliches Praktikum an  
Permakultur am Rathmosergut in St. Ulrich bei Steyr bei DI Sepp  
& Veronika Hundsberger  
Seit 2007 Diplomierte CFD-PractitionerIn (für prozessorientierte,  
integrative Körperarbeit)  
2008/2009 Teilzeitbeschäftigung in der Biolandwirtschaft Wagner in 3233  
Kilb