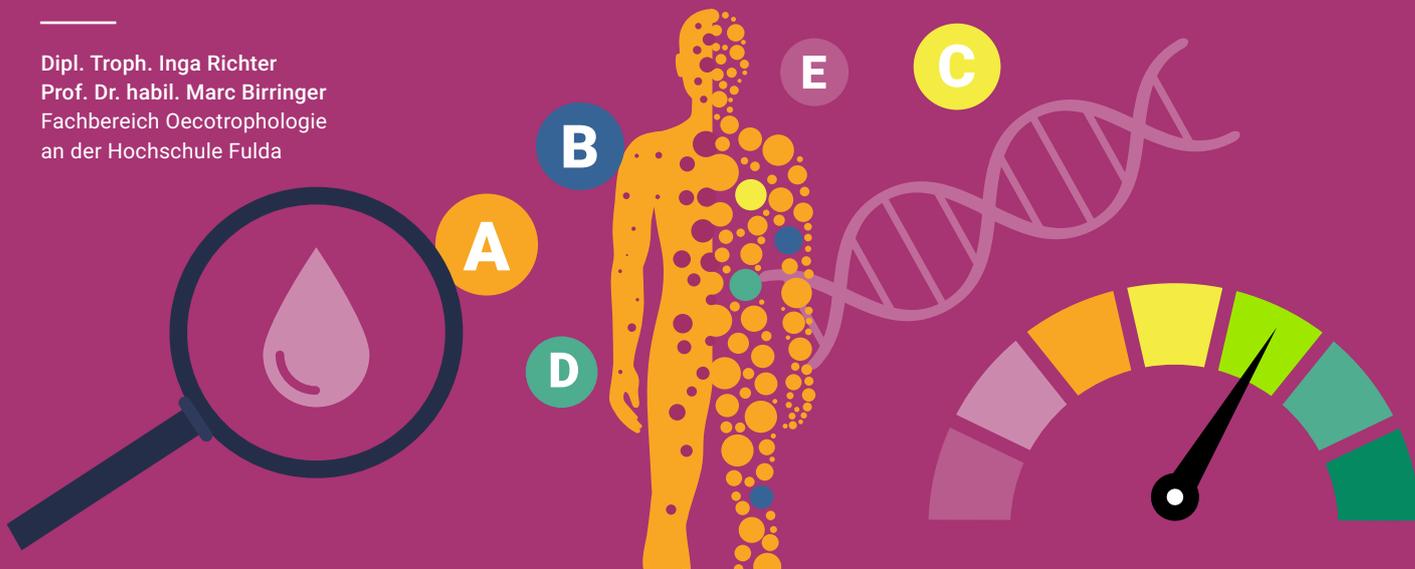




## BIOMARKER – WICHTIGE PARAMETER ZUR BEWERTUNG DES NÄHRSTOFFSTATUS | TEIL 1

Dipl. Troph. Inga Richter  
Prof. Dr. habil. Marc Birringer  
Fachbereich Oecotrophologie  
an der Hochschule Fulda



### Vitamine und essenzielle Fettsäuren

Der Versorgungsstatus eines Menschen mit Nährstoffen hängt von vielen Faktoren, wie der Ernährung bzw. den Ernährungsgewohnheiten, dem individuellen Stoffwechsel, der körperlichen Aktivität bis hin zur Zusammensetzung der Darmmikrobiota ab. Diese Ausgabe von FOKUS Wissenschaft beschäftigt sich in erster Linie mit dem Nährstoffstatus für Vitamine und essenzielle Fettsäuren und den diagnostischen Parametern, die zur Bewertung des Versorgungsstatus herangezogen werden können.

Aber woher kennen wir den Bedarf an Nährstoffen? Um den sogenannten mittleren Bedarf einer gesunden Bevölkerungsgruppe zu ermitteln, können die Ergebnisse repräsentativer Befragungen zu Ernährungsgewohnheiten herangezogen werden. Außerdem werden Bilanzierungsstudien zu einzelnen Nährstoffen durchgeführt, um den Bedarf und weitere Empfehlungen abzuleiten. Die Nationale Verzehrsstudie II (NVS II) aus dem Jahr 2008 liefert bisher die solideste Datenlage zu den Ernährungsgewohnheiten Jugendlicher und Erwachsener in Deutschland. Aus diesen Daten geht hervor, dass die Bundesbürger:innen – im Mittel – ausreichend mit den meisten

Mineralstoffen, Spurenelementen und Vitaminen versorgt sind. Eine potenzielle Unterversorgung wurde jedoch bei einigen Vitaminen wie Vitamin D, Folat sowie Vitamin C und E festgestellt.

Neben der allgemeinen Bevölkerung stehen besondere Personengruppen im Fokus der Bedarfsforschung. Hierzu gehören vor allem ältere Menschen (> 65 Jahre) sowie Personen in Pflegeeinrichtungen, Schwangere, Jugendliche und Menschen mit chronischen Erkrankungen sowie die größer werdende Gruppe von Vegetarier:innen und Menschen mit veganer Ernährungsweise.

#### Inhalt

Einleitung	1
Vitamine und essenzielle Fettsäuren	
Vitamin A (Retinol)	2
Vitamin B <sub>12</sub> (Cobalamin)	3
Folat (früher auch Vitamin B <sub>9</sub> )/ Folsäure	4
Vitamin C (Ascorbinsäure)	5
Vitamin D (Cholecalciferol)	6
Vitamin E (Tocopherol)	7
Vitamine B <sub>1</sub> (Thiamin)	8
Essenzielle Fettsäuren	9
Laboranalytik von Biomarkern	13
Bewertung von Biomarkern und Selbsttests	13
Glossar	14
Literaturempfehlungen	16



Vor allem Veganer:innen laufen Gefahr, eine Unterversorgung an kritischen Nährstoffen zu erleiden. Dazu gehören vor allem Vitamin B<sub>12</sub>, aber auch langkettige Omega-3-Fettsäuren, Riboflavin und Vitamin D sowie die Mineralstoffe Calcium, Eisen, Jod, Zink und Selen. Eine weitere Gruppe sind Personen, die in Zusammenhang mit dem Phänomen des „Hidden Hungers“ stehen. „Hidden Hunger“ bezeichnet eine Form der Unterernährung, bei der zwar meist genügend Makronährstoffe aufgenommen werden,

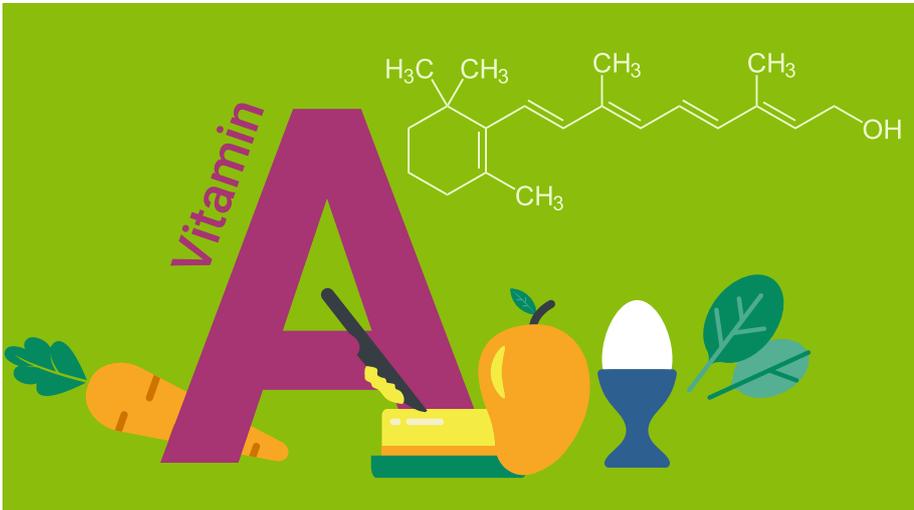
jedoch wichtige Mikronährstoffe wie Vitamine und Mineralstoffe in ausreichenden Mengen fehlen. Betroffen sind nicht nur Menschen in Schwellenländern, sondern insbesondere auch Personen (meist Kinder), die unter prekären Lebensbedingungen leben, sowie Menschen mit einem niedrigen sozioökonomischen Status.

Um eine verlässliche Aussage über den Versorgungsstatus an Mikronährstoffen zu erhalten, werden in der klinischen Diagnostik Biomarker verwendet. Diese können aus unterschiedlichen Patientenproben (Matrices) bestimmt werden. Darunter fallen Urin-, Vollblut- bzw. Serumproben. Biomarker können mit modernen analytischen Methoden meist in ausreichender Genauigkeit und Präzision bestimmt werden, erlauben genaue Aussagen über den Nährstoffstatus eines

Menschen und ermöglichen die Wiederherstellung des ausgewogenen Nährstoffhaushalts.

Im Folgenden werden Biomarker für ausgewählte, oftmals kritische fett- und wasserlösliche Vitamine sowie für essenzielle Fettsäuren vorgestellt und bewertet. Die Tabelle auf **Seite 10 ff.** gibt einen Überblick über die vorgestellten Biomarker, deren Analytik und die zu beachtenden Besonderheiten. Die verwendeten Methoden werden im Glossar kurz erläutert und eingeordnet. In der nächsten Ausgabe von FOKUS Wissenschaft gehen die Autoren in einem 2. Teil zu diesem Thema auf die Biomarker der Spurenelemente und Mineralstoffe ein.

## Vitamin A (Retinol)



### FUNKTION UND QUELLEN

Als Vitamin A wird das Molekül Retinol bezeichnet, welches als Palmitoylester oder proteingebunden im Blut zirkuliert. Als Prohormon kann Retinol in die Hormone Retinal und Retinsäure umgewandelt werden. Retinal ist an das Protein Rhodopsin gebunden und essenziell für den Sehvorgang. Retinol ist im Blut an

das Retinol-Bindeprotein (*Retinol-binding protein*, RBP) gebunden und kann durch Entzündungsprozesse deutlich reduziert sein.

Neben dem Retinol aus tierischen Quellen spielt das Provitamin  $\beta$ -Carotin, welches in vielen Obst- und Gemüsesorten (Mango, Karotten, Spinat etc.) zu finden ist, eine für die Ernährung wichtige

Rolle. Es wird in den Enterozyten des Magen-Darm-Trakts durch das Enzym  $\beta$ -Carotin-15-15'-mono-oxygenase (BMC O) in zwei Moleküle Retinaldehyd gespalten.

### METABOLISMUS UND VERSORGUNG

Durch eine einseitige Ernährung oder eine Malabsorption von Fetten kann es zu einer Unterversorgung mit Vitamin A (und anderen fettlöslichen Vitaminen) kommen. Eine Malabsorption kann z. B. mit Störungen der Gallenfunktion sowie des Pankreas einhergehen. Die Folge einer längerfristigen Mangelernährung sind hier Xerophthalmie (trockenes Auge) und Nachtblindheit. Außerdem sind von einem Vitamin-A-Mangel reproduktive Prozesse und die Embryonalentwicklung betroffen. Die Retinsäure ist an der Zellteilung und -differenzierung beteiligt und dient als Ligand für eine Reihe von Transkriptionsfaktoren, welche die Expression von mehr als 500 Genen beeinflussen können. Außerdem regelt Vitamin A u. a. im Zusammenspiel mit Vitamin D wichtige Immunfunktionen.

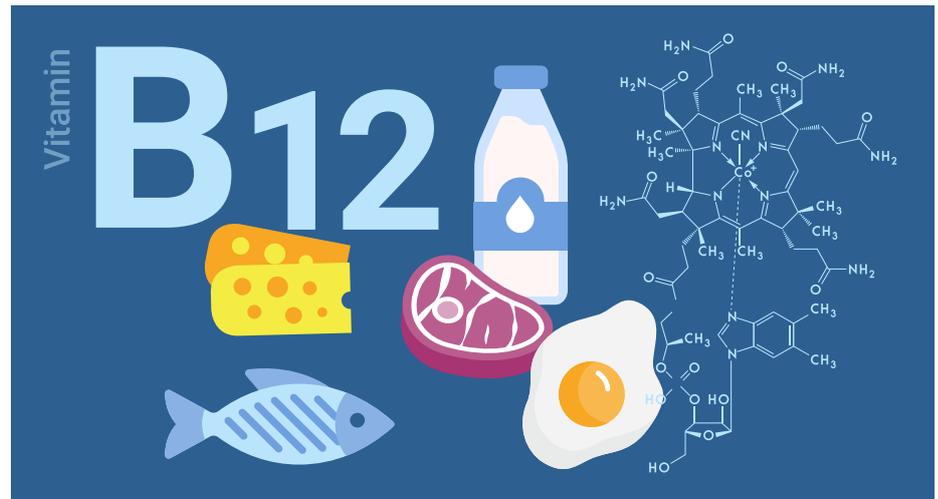
Der durchschnittliche Bedarf an Vitamin A wird in  $\mu\text{g}$  Retinolaktivitätsäquivalenten (retinol activity equivalent, RAE) angegeben. Dabei entspricht 1  $\mu\text{g}$  Retinol etwa 12  $\mu\text{g}$   $\beta$ -Carotin sowie 24  $\mu\text{g}$  anderer Provitamin-A-Carotinoide (z. B.  $\alpha$ -Carotin oder  $\beta$ -Cryptoxanthin). Die D-A-CH-Referenzwerte für erwachsene Männer liegen bei 850  $\mu\text{g}$  RAE/d sowie 700  $\mu\text{g}$  RAE/d für Frauen. Schwangere und Stillende haben einen deutlich erhöhten Bedarf (800 bzw. 1300  $\mu\text{g}$  RAE/d).

### BIOMARKER UND IHRE ANALYTIK

In der Routineanalytik wird üblicherweise das Retinol über *High Performance Liquid Chromatography-UV* (HPLC-UV) bestimmt, da die anderen Metabolite im Blut nur in Spuren vorkommen. Da die Serumkonzentration von Vitamin A erst zu sinken beginnt, wenn die Speicher im Körper (vor allem die in der Leber) geleert sind, ist diese Messung zur Bestimmung eines Mangels weniger geeignet als funktionelle Tests. Werden Serum-Retinolspiegel von  $> 1,05 \mu\text{mol/l}$  gemessen, geht man von einer guten Versorgung aus; Retinolspiegel von  $< 0,35 \mu\text{mol/l}$  weisen auf ein hohes Risiko für ein Vitamin-A-Defizit hin. Aufwendig, aber auch genauer, ist die *relative dose-response-Methode* (RDR), bei der die Serumkonzentration vor und nach einer oralen Gabe an Retinol bestimmt wird. Auf einen Mangel deutet ein Anstieg um mehr als 20 % gegenüber dem Anfangswert hin. Bei der Probenentnahme und -aufbereitung muss mit Hilfe zugesetzter Antioxidantien und unter Lichtausschluss gearbeitet werden, um eine Oxidation der Retinoide sowie des  $\beta$ -Carotins zu verhindern.

Die Bestimmung des Retinol-binding proteins (RBP) im Urin über Immunoassays (z. B. *Enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) ist möglich und korreliert mit dem Vitamin-A-Status. Jedoch ist bei vorliegenden entzündlichen Erkrankungen Vorsicht geboten, da RBP ein Akut-Phase-Protein ist und die Konzentrationen stark variieren können.

## Vitamin B<sub>12</sub> (Cobalamin)



### FUNKTION UND QUELLEN

Vitamin B<sub>12</sub> wirkt als wasserlösliches Vitamin als Co-Faktor für die Enzyme Methylmalonyl-Coenzym A-Mutase sowie für die Methionin-Synthase. Bei letzterer spielt auch Folat eine wichtige Rolle (s. Folat). Vitamin B<sub>12</sub> wird ausschließlich durch Mikroorganismen synthetisiert und von Tieren durch den Verzehr der pflanzlichen Mikroflora aufgenommen. Der Bedarf des Menschen wird in erster Linie über tierische Lebensmittel gedeckt.

### METABOLISMUS UND VERSORGUNG

Die Freisetzung von nahrungsgebundenem Vitamin B<sub>12</sub> erfolgt durch das Protein Intrinsic-Faktor (IF), welches von den Belegzellen des Magens gebildet und freigesetzt wird. Nach der Bindung an Haptochorin (CH) erfolgt der Transport über den Dünndarm und die Aufnahme ins Blutplasma im unteren Ileum. Freies Cobalamin wird hier an ein weiteres Binde- bzw. Transportprotein, das Transcobalamin (TC), gebunden und als holo-TC zu verschiedenen Geweben transportiert. Dank des enterohepatischen Kreislaufs wird Vitamin B<sub>12</sub> ständig recycelt, wodurch sich die Leberspeicher im Mangelzustand erst nach ca. zehn Jahren leeren.

Ein subklinischer Mangel an Vitamin B<sub>12</sub> kann sich durch Müdigkeit, Nervosität sowie Taubheit oder Kribbeln in Fingern und Zehen bemerkbar machen.

Ein schwerwiegender bis schwerer Mangel kann zu einer funikulären Myelose, zu einer Anämie und ggf. zu irreversiblen Nervenschäden führen. Eine perniziöse Anämie (oft bei älteren Menschen), die durch eine Autoimmunantwort gegen den Intrinsic-Faktor gekennzeichnet ist, verhindert die Absorption von Cobalamin über den Gastrointestinaltrakt. Dies ist die häufigste Ursache eines Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels mit einer altersabhängigen Prävalenz. Daneben kann es bei Absorptionsstörungen wie z. B. einem Magen-Bypass, einer Resektion des unteren Ileums oder Infektionen des Intestinaltrakts (z. B. Morbus Crohn) zu einem Mangel kommen. Weiterhin wirken sich Medikamente wie Protonenpumpen-Hemmer oder auch das Diabetesmedikament Metformin negativ auf die Aufnahme von Cobalamin aus. Personen, die sich vegetarisch, aber vor allem vegan ernähren, sind auf die zusätzliche Vitamin-B<sub>12</sub>-Zufuhr in Form von Nahrungsergänzungsmitteln angewiesen. Die Zufuhrempfehlung liegt bei 4,0  $\mu\text{g}$  Vitamin B<sub>12</sub> pro Tag sowie bei 4,5  $\mu\text{g}$  und 5,5  $\mu\text{g}$  Vitamin B<sub>12</sub> pro Tag bei Schwangeren und Stillenden.

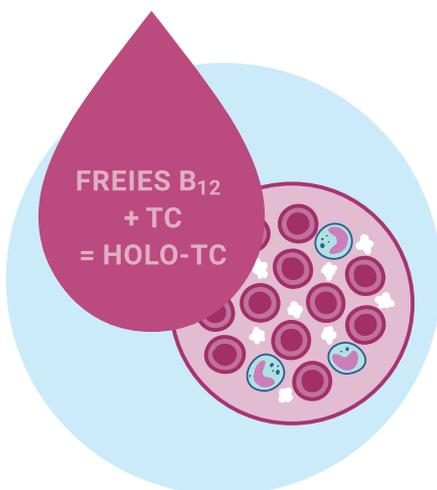
### BIOMARKER UND IHRE ANALYTIK

Anhand des Blutbildes ergeben sich erste Hinweise auf einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel. Eine makrozytäre Anämie beschreibt besonders große Erythrozyten (mittleres korpuskuläres Volumen, MCV,  $> 98 \text{ fl/Zelle}$ ), die durch einen Mangel an Vitamin B<sub>12</sub> oder aber auch durch

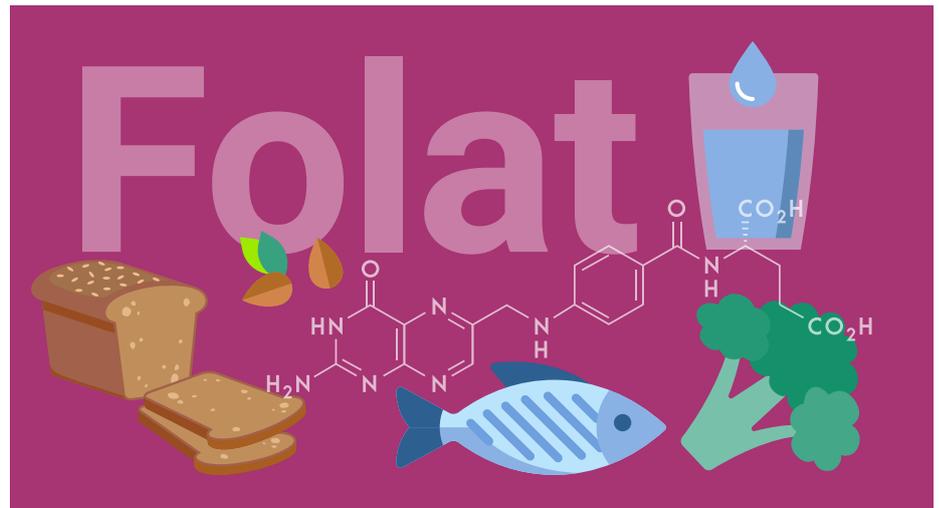
einen Folatmangel entstehen können. Zur Abklärung eines Vitamin-B<sub>12</sub>- Mangels empfiehlt sich die Messung von holo-TC im Blut, da die Blutwerte des freien Cobalamins im Mangelzustand erst spät zu sinken beginnen. Werden Vitamin-B<sub>12</sub>-Spiegel im Serum von weniger als 200 pg/ml gemessen, kann von einem schweren Vitaminmangel ausgegangen werden. Bei Werten zwischen 200 und 350 pg/ml empfiehlt sich eine Messung von holo-TC und Methylmalonsäure (MMA). Dabei sollten die holo-TC-Werte bei 35-50 pmol/l und die MMA-Konzentration < 271 nmol/l liegen, um einen Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel auszuschließen. Bei Patientinnen und Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz können die Werte von holo-TC im Normalbereich liegen, sodass ein Monitoring von MMA der einzige Marker sein kann, der sich durch Vitamin- B<sub>12</sub>-Gabe verbessert.

Zur Bestimmung von freiem Cobalamin sowie holo-TC werden unterschiedliche Enzym-Immunoassays (EIAs) verwendet (s. Glossar). MMA wird üblicherweise mittels *Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung* (GC-MS) quantifiziert.

Das erwähnte Zusammenspiel von Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure erfordert in manchen Fällen weitere Diagnoseschritte. Da eine makrozytäre Anämie auch durch einen Folatmangel bedingt sein kann, sollten bei der Bestimmung von Vitamin B<sub>12</sub> gleichzeitig die Folsäurewerte in den Erythrozyten gemessen werden (s. Folat).



## Folat (früher auch Vitamin B<sub>9</sub>)/Folsäure



### FUNKTION UND QUELLEN

Der Begriff Folat umfasst die verschiedenen aktiven Formen des wasserlöslichen Vitamins (früher auch Vitamin B<sub>9</sub> genannt). Strukturell weisen alle dasselbe Grundgerüst auf und unterscheiden sich in der Anzahl der gebundenen Glutamatreste. Die synthetisch hergestellte Form mit nur einem Glutamatrest wird als Folsäure bezeichnet und findet vor allem in Nahrungsergänzungsmitteln und angereicherten Lebensmitteln Verwendung. Um der unterschiedlichen Absorbierbarkeit der Folate Rechnung zu tragen, spricht man von Folsäureäquivalenten: 1 µg Folsäureäquivalent  $\cong$  1 µg Nahrungsfolat  $\cong$  0,5 µg freie/synthetische Folsäure.

Folat ist in tierischen und pflanzlichen Lebensmitteln enthalten. Die meisten Folate oxidieren sehr leicht bei Anwesenheit von Sauerstoff und sind hitzeempfindlich. Dies muss bei der Probenvorbereitung beachtet werden. Vitamin C kann hier als Antioxidanz vor Oxidation schützen.

### METABOLISMUS UND VERSORGUNG

Folate werden im Organismus zu 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure (5-Methyl-THF) verstoffwechselt und im Blut proteingebunden transportiert. 5-Methyl-THF überträgt Kohlenstoff (C1)-Einheiten auf verschiedene Akzeptoren und trägt somit u. a. zur Synthese von Nukleinsäu-

ren, aber auch zur Umwandlung von Homocystein zu Methionin bei. Folglich sind Prozesse mit hohen Zellteilungsraten vulnerable Prozesse. So kann ein Folatmangel z. B. durch die verlangsamte Hämatopoese in einer makrozytären Anämie resultieren (siehe auch Vitamin B<sub>12</sub>). Bei Föten besteht die Gefahr von Missbildungen (z. B. Neuralrohrdefekte). Auch eine unzureichende Aufnahme von Vitamin B<sub>12</sub> kann die Folatversorgung beeinträchtigen, da Vitamin B<sub>12</sub> für den notwendigen Methylgruppen-transfer vom 5-Methyl-THF als Cofaktor unerlässlich ist. In dieser sogenannten „Folatfalle“ kann trotz ausreichender Versorgung mit Folaten keine für den Organismus verwertbare Form des Folats zur Verfügung gestellt werden und ein funktioneller Mangel entstehen. In der Folge findet keine Methylierung von Homocystein zu Methionin statt und Methionin fehlt für eine Vielzahl von biochemischen Reaktionen als universeller Methylgruppendonor (z. B. für die Synthese von Nukleinsäuren, Neurotransmittern u. a.).

Allgemeine Anzeichen einer Unterversorgung sind z. B. Appetitverlust, Wachstumshemmung, Dermatitis, Muskelschwäche und Depressionen. Entwickelt sich eine megaloblastische Anämie, zeigen sich anfangs Müdigkeit und Schwäche, fehlende Konzentrationsfähigkeit, Kopfschmerzen, Kurzatmigkeit und Herzbeschwerden. Neben einer unzureichenden Zufuhr sind ein

erhöhter Bedarf u. a. durch Schwangerschaft, Alkoholmissbrauch, Malabsorption und Medikamenteneinnahme mögliche Faktoren für eine Unterversorgung.

Auch wenn die D-A-CH-Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr aufgrund der Neubewertung der vorliegenden Studienergebnisse von 400 µg auf 300 µg/d gesenkt wurden, bleiben die bei der NVS II ermittelten Zufuhrwerte, insbesondere bei Frauen, unzureichend. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) empfiehlt daher Frauen, die schwanger werden könnten bzw. wollen, und Schwangeren bis zum dritten Monat eine Nahrungsergänzung.

### BIOMARKER UND IHRE ANALYTIK

Der analytische Nachweis von Folat kann im Plasma wie auch in den Erythrozyten erfolgen. Der Gehalt in den Erythrozyten spiegelt den langfristigen Folatstatus der letzten drei Monate und den Speicher im Gewebe wider.

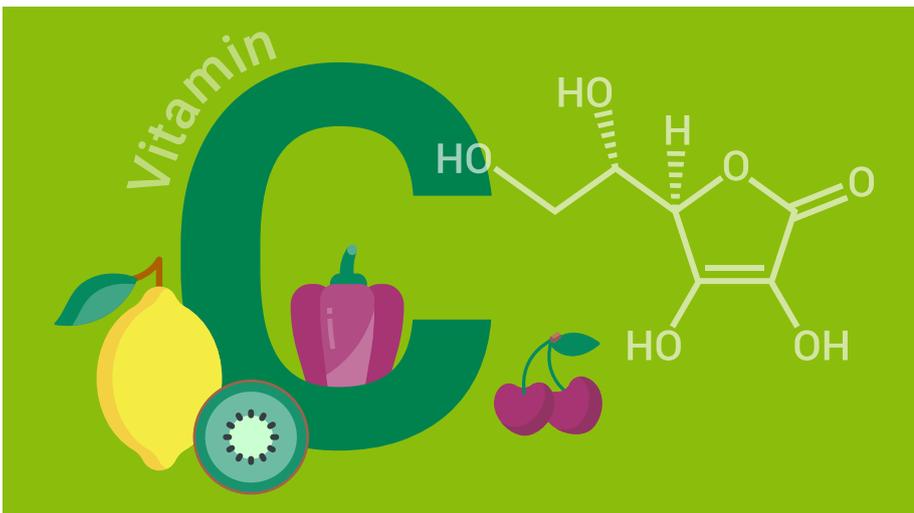
Der Plasmaspiegel hingegen schwankt stark durch seine Abhängigkeit von kurzfristigen Nahrungseinflüssen. Dieser Wert kann zusätzlich verzerrt werden, da Folat bei unzureichender Zufuhr über den Blutkreislauf umverteilt wird. Der Goldstandard für die Folatmessung ist ein mikrobiologischer Nachweis (MBA) mit *Lactobacillus rhamnosus*, einem Milchsäurebakterium, das auf Folat angewiesen ist und sich proportional zum vorhandenen Folatgehalt vermehrt, bis das Substrat, also das Folat, aufgebraucht ist. Quantifiziert wird mit Hilfe einer photometrischen Messung der Trübung. Alternativ bieten Massenspektrometrie-Methoden (*Liquid chromatography-mass spectrometry*, LC-MS) bei sorgfältiger Präanalytik eine gute Empfindlichkeit und Präzision. Für die Bestimmung des in den Erythrozyten vorliegenden Folates (Red Cell Folate, RCF) ist eine vorherige Hämolyse und vollständige Umwandlung in Monoglutamate notwendig. Antikörperbasierte Immunoassays (*Enzyme-linked immunosorbent assays*, ELISAs) unterliegen aufgrund der unterschiedlichen Bindungsaffinitäten

der Folat-Formen größeren Schwankungen. Der Serumfolatspiegel sollte Werte größer als 10 nmol/l erreichen und Werte für erythrozytäres Folat sollten größer als 340 nmol/l sein.

Aufgrund der oben beschriebenen „Folatfalle“ kann bei einem hohen Folatspiegel im Serum ein maskierter Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangel ausgeschlossen werden, indem auch dieser Status im Rahmen einer Differenzialdiagnose überprüft wird. Ein isolierter Folatmangel kann durch normale Serumspiegel von Cobalamin und MMA bestätigt werden (siehe Vitamin B<sub>12</sub>).

Als weiterer funktioneller Biomarker dient das Homocystein im Plasma, da die Remethylierung von Methionin zu Homocystein ein Folat-vermittelter Prozess ist (s. o.). Aber auch die Vitamine B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> sowie B<sub>12</sub> sowie Funktionsstörungen der Niere können den Plasmaspiegel des Homocysteins verändern, sodass er nicht als alleiniger Biomarker für die Diagnose eines isolierten Folatmangels geeignet ist.

## Vitamin C (Ascorbinsäure)



### FUNKTION UND QUELLEN

Vitamin C ist der Trivialname für L-Ascorbinsäure sowie deren Derivate, die identische Wirkungen aufweisen. Dazu zählt vor allem die oxidierte Form, die L-Dehydroascorbinsäure. Die meisten Pflanzen und Tiere sind in der Lage,

L-Ascorbinsäure aus D-Glukose zu synthetisieren. Einigen Primaten sowie dem Menschen, Meerschweinchen und Flughunden fehlt das letzte notwendige Enzym dieser Reaktion. Für sie ist Ascorbinsäure ein Vitamin, d. h. sie müssen sie zuführen.

Die zahlreichen biologischen Funktionen des Vitamin C beruhen auf seiner Fähigkeit, Elektronen abzugeben und als Redoxsystem zu agieren. Es wirkt als Antioxidanz, stellt Reduktionsäquivalente zur Verfügung und fungiert als Co-Faktor (z. B. bei der Biosynthese der Neurotransmitter und von Cortisol). Zusätzlich ist das Vitamin z. B. an der Kollagen-, Gallensäure- und Carnitinsynthese, der Aktivierung neuroendokriner Hormone, der Eisenresorption und der Cytochrome P450-Expression beteiligt.

Vitamin C ist v. a. in pflanzlichen Lebensmitteln (z. B. Zitrusfrüchten, Gemüse, Beeren) in z. T. hohen Konzentrationen enthalten. Da es in der Lebensmittelindustrie als Antioxidanz zugesetzt wird, wird es auch mit verarbeiteten Produkten wie z. B. Fleisch- und Wurstwaren aufgenommen. Bei der Zubereitung und Lagerung der Lebensmittel ist allerdings mit beträchtlichen Verlusten zu rechnen, da Vitamin C licht- und hitzeempfindlich sowie wasserlöslich ist.

## METABOLISMUS UND VERSORGUNG

Der Median der Zufuhr gemäß der NVS II liegt bei Männern (130 mg/d) wie auch bei Frauen (134 mg/d) zwar deutlich über den D-A-CH-Referenzwerten, allerdings erreichen 30 % die Zufuhrempfehlung nicht.

Die Internationale Einheit (IE) des Vitamin C entspricht der Wirkung von 50 µg reiner, kristalliner L-Ascorbinsäure. Subklinische Anzeichen einer unzureichenden Versorgung zeigen sich durch sehr unspezifische Symptome wie z. B. Müdigkeit, Leistungs- und Immunschwäche. Skorbut (bei Säuglingen Moeller-Barlow-Krankheit), die klassische Vitamin-C-Mangelerkrankung, die allerdings in Deutschland heutzutage kein Problem mehr darstellt, zeigt sich durch Symptome wie subkutane und intramuskuläre Blutungen, verzögerte

Wundheilung (zusätzlich Zink bestimmen!) und Gelenkschmerzen. Diese Symptome sind weitgehend das Ergebnis einer gestörten Kollagensynthese. Zu den Risikogruppen für einen Vitamin-C-Mangel zählen u. a. starke Raucher:innen, einseitig ernährte Kinder, Menschen mit Malabsorption und Seniorinnen und Senioren. Auch Patientinnen und Patienten mit einer graft-versus-host-Reaktion nach Transplantation tragen ein hohes Risiko für eine unzureichende Vitamin-C-Versorgung.

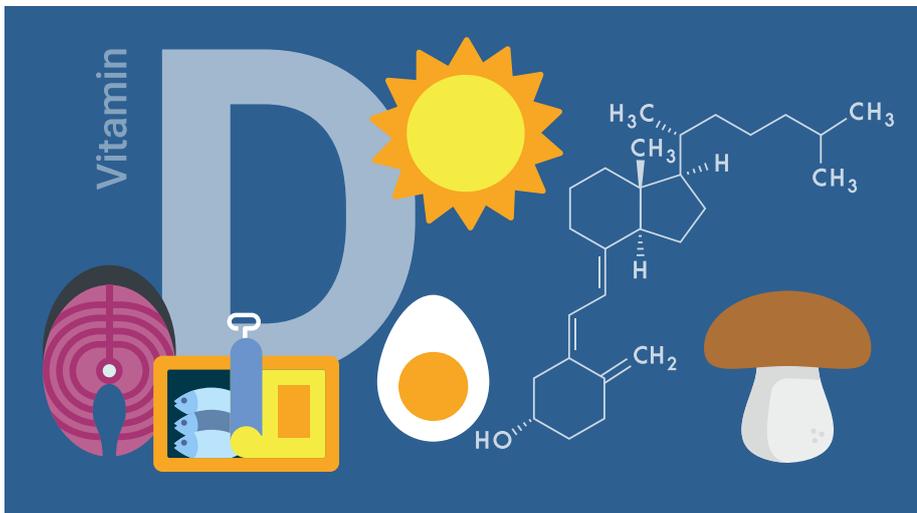
## BIOMARKER UND IHRE ANALYTIK

Der Nachweis des Vitamin C im Plasma ist mit einigen Schwierigkeiten verbunden und in nur wenigen Fällen wie dem Verdacht auf Skorbut oder einer chronisch niedrigen Zufuhr indiziert. Das im Körper vorhandene Vitamin C ist auf die Kompartimente verteilt, in denen seine

antioxidativen Fähigkeiten benötigt werden, wodurch der Serumspiegel an Aussagekraft verliert. Zusätzlich stellt die Präanalytik des Vitamin C durch seine Instabilität besondere Anforderungen an die Praxis und das analysierende Labor. Idealerweise wird die Probe lichtgeschützt und tiefgefroren transportiert. Zur Abschätzung der körpereigenen Speicher eignet sich die Messung der Vitamin-C-Konzentration in den Leukozyten, die allerdings technisch anspruchsvoller ist.

Zum aktuellen Zeitpunkt gibt es keinen weiteren funktionellen Biomarker, der zur Bewertung des Vitamin-C-Status beitragen kann. Daher behalten die klassische Ernährungsanamnese und Aufnahme-Mengen-Analyse in der Praxis ihre Bedeutung.

# Vitamin D (Cholecalciferol)



## FUNKTION UND QUELLEN

Das fettlösliche Vitamin D<sub>3</sub> (Cholecalciferol) wurde zwar seit den 1920er Jahren als Vitamin deklariert, gehört im eigentlichen Sinn aber zu den Hormonen bzw. Prohormonen, da die körpereigene Vorstufe 7-Dehydrocholesterol (Provitamin D<sub>3</sub>) unter Exposition durch UVB-Strahlen (Sonnenlicht) in Cholecalciferol (Vitamin D<sub>3</sub>) umgewandelt werden kann. In der Leber entsteht daraus als Zwischenprodukt Calcidiol (25-[OH]-D), das in der

Niere zum aktiven Metaboliten Calcitriol (1,25-[OH]<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) hydroxyliert wird.

Die Aufnahme über die Nahrung (z. B. fettreicher Fisch, sonnengetrocknete Pilze) spielt eine untergeordnete Rolle, da es keine Vitamin-D-reichen Lebensmittel gibt. Mit steigendem Alter sinken sowohl die Absorption als auch die Kapazität zur Eigensynthese.

## METABOLISMUS UND VERSORGUNG

Die Zufuhrempfehlungen für Vitamin D sind für Säuglinge 10 µg/d (≙ 400 IE) und für alle anderen Altersgruppen 20 µg/d (≙ 800 IE). Da die Zufuhr über Lebensmittel gering ist und die endogene Synthese nur unter bestimmten Voraussetzungen (z. B. fehlender Sonnenschutz, Sonnenexposition in bestimmten Monaten zu einer bestimmten Tageszeit) zur Versorgung beitragen kann, empfiehlt sich eine Supplementierung. Der Upper Level (UL) von 100 µg/d (≙ 4000 IE) – also die sichere tägliche Aufnahmemenge – sollte bei Menschen ohne besonderes Risiko nicht überschritten werden, da eine Hypercalcämie die Folge sein kann. Im Gegensatz dazu kann es durch die endogene Produktion zu keiner Intoxikation kommen.

Von einem Vitamin-D-Mangel sollte, entgegen der gängigen Terminologie, erst dann gesprochen werden, wenn nicht nur niedrige Serumspiegel, sondern auch klinisch relevante Symptome einer Mangelernährung (z. B. Osteomalazie bei Erwachsenen, Rachitis bei Kindern) vorliegen. Beide zeigen klinische Symptome

einer Muskelschwäche. Die Rachitis bei Kindern geht außerdem mit Wachstumsstörungen, Appetitverlust, Gelenk- und Knochenschmerzen und sehr später Zahnung einher. Die Osteomalazie zeigt sich durch diffuse Schmerzen, v. a. an den Sehnenansätzen. Auch wenn kein manifestierter Vitamin-D-Mangel vorliegt, sind in Deutschland nachweislich viele Menschen, gerade in den Wintermonaten, mit Vitamin D unterversorgt.

## BIOMARKER UND IHRE ANALYTIK

Bei einem begründeten Verdacht auf eine Unterversorgung oder bei Risikogruppen (z. B. Menschen, die sich nicht im Freien aufhalten, Seniorinnen und Senioren, Veganer:innen, Personen mit chronischen Magen-Darm-, Nieren- und Leberfunktionsstörungen sowie unter Einnahme von Glucocorticoiden, HIV-Medikamenten, Cholestyramin [Cholesterinresorptionshemmer], Antikonvulsiva oder Zytostatika) kann der Serumspiegel des Calcidiols, der Speicherform und dem Vorläufer des aktiven Vitamin D, bestimmt werden. Dieser Wert erlaubt eine Beurteilung der Gesamtversorgung aus endogener Synthese und Zufuhr über die Nahrung, da sowohl Ergo- als auch Cholecalciferol in der Leber zu Calcidiol hydroxyliert werden. Die Halbwertszeit des zirkulierenden Calcidiols liegt bei ca. 15 Tagen. Ein Blutwert unter 50–75 nmol/l (oder 20–30 ng/ml) Calcidiol wird im Allgemeinen als Vitamin-D-Mangel definiert. Ein Grenzwert von < 25 oder < 30 nmol/l (oder 10–12 ng/ml) erhöht das Risiko für Osteomalazie und ernährungsbedingte Rachitis drastisch und wird daher als Indikator für einen schweren Vitamin-D-Mangel angesehen. Die Bestimmung des aktiven Metaboliten, des 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, hingegen eignet sich nur bei speziellen nephrologischen Fragestellungen oder zur Diagnostik von Osteoporose bei Frauen in der Menopause, da die Niere durch das sinkende Östrogen nur noch eingeschränkt hydroxyliert. Außerdem ist bei der Beurteilung zu beachten, dass bei einem Vitamin-D-Mangel die Sekretion des Parathormons angekurbelt wird, um die renale Hydroxylierung des Calcidiols zu fördern. So können selbst bei einem Mangel normale oder erhöhte Werte des 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>

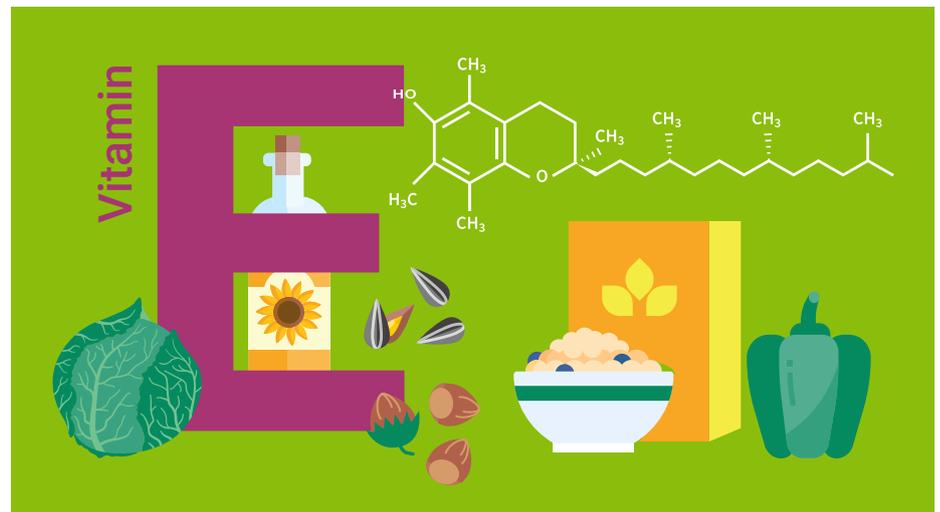
gemessen werden. Für eine allgemeine Aussage über die Versorgung des Körpers ist der aktive Metabolit nicht geeignet, da die Halbwertszeit mit 4–6 Stunden sehr kurz ist und der Wert starken, individuellen Schwankungen unterliegt. Auch sind die Anforderungen an die Analytik durch die sehr niedrigen Serumspiegel hoch.

Die Analytik des Vitamin D stellt auch durch seine lipophile Natur und die starke Assoziation mit dem Vitamin-D-bindenden-Protein (DBP) sowie zu kleinen Teilen auch mit Albuminproteinen eine große Herausforderung dar, weil vor der eigentlichen Analytik eine vollständige Trennung von Vitamin D und den Proteinfractionen nötig ist. Das allgemein anerkannte Referenzmessverfahren ist aufgrund der Präzision und Genauigkeit die Tandem-Massenspektrometrie (*Liquid chromatography-mass spectrometry*, LC-MS). Da dieses jedoch teuer und aufwendiger als automatisierte, immunologische Methoden ist, führen einige Labore letztere weiterhin durch.

Hier ist zu beachten, dass automatisierte, immunologische Methoden fehleranfällig sind und den Serumspiegel durch unzureichende Trennung vom DBP und somit Blockierung der Antigenregion häufig unterschätzen. Die Angabe eines methodenspezifischen Referenzbereiches ist hier dringend angeraten. Bei einer Verlaufskontrolle sollte, soweit möglich, dasselbe Labor bzw. dieselbe Methode gewählt werden. Die Messunsicherheit bei frei verkäuflichen Schnelltests ist folglich noch höher.

Da der Körper bei einem Vitamin-D-Mangel das damit einhergehende Absinken des Calciumspiegels durch eine erhöhte Sekretion des Parathormons (PTH) auszugleichen versucht, ist auch das PTH als Biomarker geeignet, um die Diagnose eines manifesten Vitamin-D-Mangels zu unterstützen. Derzeit gibt es jedoch keinen anderen Biomarker, der allein für die Bestimmung des Vitamin-D-Status bzw. eines Vitamin-D-Mangels und der daraus resultierenden Mangelerscheinungen dienen kann.

## Vitamin E (Tocopherol)



### FUNKTION UND QUELLEN

Unter dem Begriff Vitamin E wird eine Reihe von strukturell ähnlichen Verbindungen zusammengefasst, die als fettlösliche Antioxidantien die ungesättigten Fettsäuren (s. u.) vor Oxidation schützen können. Neben den Tocotrienolen (mit

einer ungesättigten Seitenkette) sind die Tocopherole, allen voran das alpha-Tocopherol, die biologisch aktivsten Substanzen. Tocopherole und Tocotrienole finden sich häufig in pflanzlichen Ölen und ölhaltigen Samen.

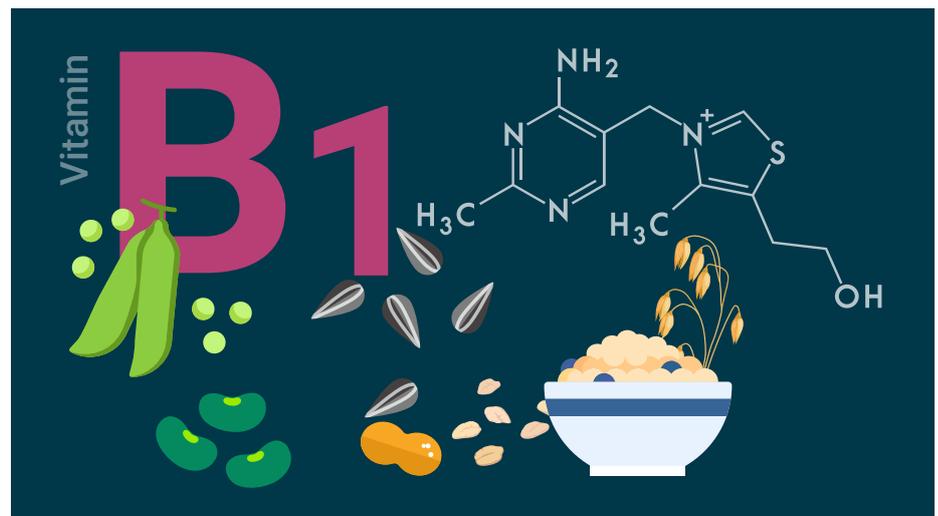
## METABOLISMUS UND VERSORGUNG

Durch die weite Verteilung der Tocopherole in Fetten und Ölen ist ein manifester Mangel an diesem Vitamin in der gesunden Bevölkerung fast ausgeschlossen. Dennoch haben laut NVS II 48 % der Männer und 49 % der Frauen ein erhöhtes Risiko für eine unzureichende Versorgung, da sie die empfohlene tägliche Zufuhr von Vitamin E nicht erreichen. Durch Malabsorptionen u. a. bei Steatorrhoe, Zöliakie, Cystischer Fibrose oder einer chronischen Pankreatitis sind Vitaminmängel u. a. auch für Vitamin E beschrieben. Mutationen im Tocopherol-Transfer-Protein verhindern das aktive Recycling des Vitamins durch die Leber und führen zu einer Neurodegeneration, deren Symptomatik einer Friedreich-Ataxie ähnelt. Die D-A-CH-Referenzwerte für die Aufnahme an Vitamin E liegen bei Jugendlichen und Erwachsenen zwischen 15 und 25 Jahren bei 15 mg Tocopheroläquivalenten (TÄ) pro Tag beim Mann und 12 mg TÄ/d bei der Frau. Da Vitamin E ungesättigte Fettsäuren vor Oxidation schützt, werden höhere Bedarfe in Abhängigkeit von der Fettsäurezusammensetzung der Nahrungsfette (v. a. bei höheren Anteilen von Docosahexaensäure, DHA, und Eicosapentaensäure, EPA, s. essentielle Fettsäuren) diskutiert.

## BIOMARKER UND IHRE ANALYTIK

Einheitliche Plasma-Referenzwerte für das Vitamin gibt es nicht, Konzentrationen von  $< 12 \mu\text{mol/l}$  werden jedoch einem Vitaminmangel zugeordnet. Eine optimale Versorgung ist bei einem Wert von  $30 \mu\text{mol/l}$  zu erwarten. Eine vollständige Beurteilung der Plasma-Tocopherolkonzentrationen ist außerdem abhängig von den Gesamtlipiden. Bei einer Malabsorption können niedrige Lipidwerte auch die Tocopherolwerte beeinflussen und sollten daher im Zusammenhang mit der Konzentration der Gesamtlipide (in g) betrachtet werden. Wie auch bei anderen antioxidativ wirksamen Vitaminen müssen Plasmaproben vor der Messung kühl und lichtgeschützt gelagert werden. Die Messung der Tocopherole erfolgt über Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC)-Methoden mit einer Fluoreszenz-Detektion (FLD).

## Vitamine B<sub>1</sub> (Thiamin)



## FUNKTION UND QUELLEN

Unter der Bezeichnung Vitamin B<sub>1</sub> werden verschiedene wasserlösliche Verbindungen mit Thiaminwirkung zusammengefasst, die sich in den Phosphatgruppen unterscheiden.

Thiamin wird nach der Aufnahme im Körper in die aktive Form, das Thiaminpyrophosphat (TPP), umgewandelt und dient als Co-Faktor für verschiedene Enzyme des Intermediärstoffwechsels, durch die es maßgeblich am Energie- und Kohlenhydratstoffwechsel beteiligt ist. So ist Thiamin z. B. unerlässlich für die Adenosintriphosphat (ATP)-Gewinnung im Citratzyklus, wo es dem Pyruvat-Dehydrogenase-Multienzymkomplex als Co-Faktor dient.

Gute Quellen des hitze- und oxidationsempfindlichen Vitamins sind z. B. Vollkorngetreide, Leguminosen, Nüsse und Fleisch.

## METABOLISMUS UND VERSORGUNG

Thiamin muss täglich mit der Nahrung aufgenommen werden, da es eine kurze Halbwertszeit hat und der Körper nur über begrenzte Speicher verfügt. Diese befinden sich vor allem in der Muskulatur, aber auch in der Leber sowie in den Nieren.

Gemäß den Daten der NVS II liegt der Median der Zufuhr in allen Altersgruppen über der empfohlenen Zufuhr. Allerdings

erreichen laut NVS II 32 % der Frauen und 21,2 % der Männer nicht die empfohlenen Mengen an Vitamin B<sub>1</sub>. Frauen nehmen durchschnittlich weniger Thiamin zu sich als Männer, ältere Menschen weniger als Jüngere. Die D-A-CH-Referenzwerte basieren auf Bilanzuntersuchungen bei mittlerer Energiezufuhr (ca. 0,5 mg/d pro 1000 kcal), da der Bedarf an Thiamin in Relation zum Energieumsatz gesehen werden muss. Ein gesteigerter Energieumsatz geht folglich mit einem erhöhten Thiaminbedarf einher.

Bei einem Thiaminmangel ist die ATP-Produktion durch den Citratzyklus empfindlich gestört, was in einer Laktatazidose resultieren kann. Da Gehirn und Nervenzellen obligat auf Glukose angewiesen sind, kann dies zu Bewusstseinsstörungen, Nystagmus und Ataxie führen, die unbehandelt im Wernicke-Korsakow-Syndrom mit irreversiblen Schäden des Gehirns resultieren können. Ein Risikofaktor für einen Thiaminmangel ist Alkoholmissbrauch, da Ethanol den Rezeptor für die Thiaminaufnahme hemmt. Zusätzlich sind Alkoholiker:innen oft mangelernährt. Menschen mit einer Herzinsuffizienz gehören aufgrund des sehr hohen Thiaminbedarfs des Herzmuskels sowie der beschleunigten Ausscheidung des Thiamins durch die leitliniengerecht eingesetzten Schleifendiuretika ebenfalls zu den Risikogruppen.

## BIOMARKER UND IHRE ANALYTIK

Indikationen für eine Analyse sind neben Alkoholabusus, Mangelernährung, niedrigen Pyruvat- und hohen Laktat-Plasmawerten latente Symptome wie Appetitlosigkeit, Reizbarkeit, Müdigkeit, Schlaf- und Verdauungsstörungen. Das klassische Mangelsyndrom „Beriberi“ kommt in unseren Regionen allerdings nicht vor.

Als Biomarker eignet sich vor allem die aktive Form des Thiamins, das TPP, das in den Erythrozyten transportiert wird und dort bestimmt werden kann. Da sich fast das gesamte zirkulierende TPP in den Erythrozyten befindet, ist der Nachweis im Vollblut oder den Erythrozyten dem im Plasma oder Serum vorzuziehen. Der angestrebte Normalwert bei Erwachsenen liegt im Vollblut/Erythrozyten bei 70–180 nmol/l.

Um Aussagen über die Thiaminversorgung durch Messungen im Urin treffen zu können, sollte 24-h-Urin verwendet werden. Dieser Nachweis ist aber sehr aufwändig und wenig sensitiv. Von einer leichten Unterversorgung geht man bei einer renalen Thiaminausscheidung von 27–66 nmol/g Kreatinin aus. Ein Mangel liegt bei < 27 nmol/g Kreatinin vor. Auch die Interpretation der indirekten Messung via Transketolaseaktivität ist mit Schwierigkeiten verbunden und kann zu falsch positiven Ergebnissen führen. Bei dieser Methode wird die Aktivität der TPP-abhängigen Transketolase mittels ihrer umgesetzten Substrate vor sowie nach Sättigung mit TPP gemessen und ein Aktivierungsquotient aus den beiden Werten ermittelt. Ein Aktivierungsquotient von > 1,25 deutet auf einen Thiaminmangel hin.



## Essenzielle Fettsäuren



### FUNKTION UND QUELLEN

Neben den Vitaminen und Spurenelementen gehören auch die essenziellen Fettsäuren zu den Mikronährstoffen, deren Biomarker hier diskutiert werden sollen. Zu den ungesättigten Fettsäuren gehören die Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren. Vertreter der Omega-3-Reihe sind EPA und DHA, deren Funktion bei der kognitiven Leistungsfähigkeit und deren positiver Einfluss auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen gut beschrieben sind. Sie sind vor allem in fettreichem Seefisch (Lachs, Hering, Makrele, Sardine etc.) und daraus hergestellten Produkten enthalten. Die  $\alpha$ -Linolensäure (ALA) gilt als wichtigster Vertreter der in Pflanzenölen (u. a. Lein-, Raps-, und Walnussöl) vorkommenden Omega-3-Fettsäuren.

### METABOLISMUS UND VERSORGUNG

Laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) soll der Anteil an Omega-6-Fettsäuren zwischen 5 und 8 % der Energieaufnahme liegen, der von Omega-3-Fettsäuren bei mindestens 1–2 %. Dabei kann ALA im menschlichen Körper in EPA und DHA durch Kettenverlängerungs- und Eliminierungsreaktion umgewandelt werden. Die Umwandlungsraten sind jedoch relativ gering (ca. 5 % ALA in EPA und ca. 1 % ALA in DHA) und können negativ durch die hohe Menge an aufgenommenen Omega-6-Fettsäuren (z. B. Linolsäure) beeinflusst werden. Daher empfiehlt die DGE für eine optimale

Ernährung ein Verhältnis von Omega-6-zu Omega-3-Fettsäuren von 5:1. Laut Bundeszentrum für Ernährung konsumieren die Deutschen mit einem Verhältnis von 10–15:1 deutlich zu viel Omega-6-Fettsäuren und insgesamt zu wenig Omega-3-Fettsäuren.

### BIOMARKER UND IHRE ANALYTIK

Für die Bestimmung von ungesättigten Fettsäuren werden die Membranen isolierter Erythrozyten analysiert. Im Gegensatz zur Messung von Fettsäuren aus dem Serum stellen die Fettsäuregehalte von Erythrozytenmembranen den besten Langzeitmarker für ungesättigte Fettsäuren dar, da diese in Membranen eingebaut werden. Die Fettsäuren werden als Fettsäuremethylester (Fatty Acid Methyl Ester, FAME) über *Gaschromatography-Flame Ionisation Detection* (GC-FID) oder *Gaschromatography-mass spectrometry* (GC-MS) bestimmt. Die Menge an ALA ist dabei gering und stellt in der Regel nur 0,3 % der Gesamtfettsäuren dar. In Abhängigkeit von den Ernährungsgewohnheiten (Konsum von Fisch, Mikroalgenöl, Fischölkapseln etc.) liegen die Mengen an DHA deutlich höher und können zwischen 2 % und 8 % erreichen. Zur Bewertung des Ernährungsstatus wird der sogenannte Omega-3-Index (Summe von DHA und EPA) der Erythrozyten bestimmt, der idealerweise über 8 % der Gesamtfettsäuren ausmachen sollte.

**Tabelle 1: Übersicht der Biomarker und ihrer Analytik**

Vitamin	Mittlere Zufuhr (gemäß NVS II)	D-A-CH-Referenzwert Zufuhr	Tolerable Upper Intake Level (UL)	ANALYTIK DER BIOMARKER					
				Biomarker	Normalbereich	Abweichungen vom Normalbereich	Matrix	Methode Bewertung *	Bemerkungen
<b>Vitamin A (Retinol)</b>	♂ 1,8 mg RE/d ♀ 1,5 mg RE/d	Erwachsene 19 – < 65 Jahre: ♂ 850 µg RAE/d <sup>a</sup> ♀ 700 RAE/d  Schwangere: 800 RAE/d  Stillende: 1300 RAE/d	Retinol  Erwachsene: 3 mg RE/d  Für Provitamin A ist kein UL definiert	Retinol	Serumspiegel: 1,4–3,0 µmol/l  relative dose-response (RDR) (+)  Normal: RDR < 20 %	RDR: Beginnender Mangel: RDR > 20 %	Serum	HPLC-UV (+) ELISA (+ -)  RDR-Methode (+)  Immunologische Methoden (+)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Serum ist als Matrix für Retinol nur bedingt geeignet, keine Aussage über den Speicher möglich</li> <li>• Beeinflussung durch Entzündungen, Protein- und Zinkmangel</li> <li>• Korreliert mit der Nierenfunktion</li> </ul>
				Retinol-binding protein (RBP)	♂ 22–60 mg/l ♀ 34–77 mg/l		Serum		<ul style="list-style-type: none"> <li>• RBP eignet sich nur dann als Marker, wenn Mangel auf gestörte RBP-Synthese zurückzuführen ist</li> <li>• Marker als Verlaufskontrolle für den Grad der Nierenfibrose</li> </ul>
				Retinylester		Hyper-vitaminose: > 250 nmol/l	Serum		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nur als Marker für Hypervitaminose geeignet</li> </ul>
<b>Vitamin B<sub>12</sub> (Cobalamin)</b>	♂ 5,8 µg/d ♀ 4,0 µg/d	Jugendliche und Erwachsene: 4,0 µg/d  Schwangere: 4,5 µg/d  Stillende: 5,0 µg/d		Vitamin B <sub>12</sub> (Cobalamin total)	229–812 pmol/l		Serum	MBA <i>Lactobacillus Leichmanii</i> (+)  Immunoassays (+ -)  CLIA (+ -)  ELISA (+ -)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Geringe Aussagekraft, da Plasma-Level trotz Mangel normal erscheinen können</li> <li>• Bei chronischer Niereninsuffizienz ggf. normale Werte trotz Mangel</li> <li>• Folat: 10–36 nmol/l</li> </ul>
				holo-TC  Methylmalonsäure (MMA)	> 50 pg/l  < 271 nmol/l (≅ 9,0–32,0 µg/ml)			ELISA (+)  GC-MS (+)  LC-MS/MS (+)	
<b>Folat (früher auch Vitamin B<sub>9</sub>)/ Folsäure</b>	♂ 283 µg/d ♀ 252 µg/d	In µg-Äquivalent/d:  Erwachsene > 13 Jahre: 300 µg  Schwangere: 550 µg  Stillende: 450 µg	Erwachsene: 1000 µg/d	Folat	> 10 nmol/l		Serum/Plasma	MBA ( <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ) (+)  LC-MS/MS (+)  Proteinbindungsassays (-)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Marker für die aktuelle Versorgung</li> <li>• In Kombination mit Vitamin B<sub>12</sub> messen</li> <li>• Bei Biotinsupplementation &gt; 10 mg/d</li> <li>• Antibiotikaeinnahme kann Einfluss nehmen</li> <li>• Hämolyse muss verhindert werden, da ↑ Folatkonzentration in den Erythrozyten</li> </ul>
					> 340 nmol/l		Erythrozyten		
				Homocystein	< 10 µmol/l		Citratplasma	LC-MS/MS (+)  Immunoassays (+-)  Enzymatische Assays (+-)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zusammenhang mit den Vitaminen B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> und B<sub>12</sub> beachten! Kann nicht als alleiniger Marker für einen Folatmangel dienen</li> <li>• Nahrungskarenz von 10–12 h erforderlich</li> <li>• Serum muss innerhalb von 30 min zentrifugiert und auf Eis gelagert werden</li> </ul>

Vitamin	Mittlere Zufuhr (gemäß NVS II)	D-A-CH-Referenzwert Zufuhr	Tolerable Upper Intake Level (UL)	ANALYTIK DER BIOMARKER					
				Biomarker	Normalbereich	Abweichungen vom Normalbereich	Matrix	Methode Bewertung *	Bemerkungen
Vitamin C (Ascorbinsäure)	♂ 130 mg/d ♀ 134 mg/d	Erwachsene: ♂ 110 mg/d ♀ 95 mg/d	Nicht definiert (EFSA/DGE)  2000 mg (NIH/IOM)	Gesamt Vitamin C (Summe aus L-Ascorbinsäure, AA + Dehydroascorbinsäure, DHAA)	> 23 µmol/l <sup>b</sup>	Hypovitaminose: < 23 µmol/l	Plasma (heparinisiert)	HPLC (+ UV/ECD/FLD) (+)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aufwendige Präanalytik</li> <li>• Serum ist ungeeignet</li> <li>• Vorsicht bei Entzündungen: Vitamin C sinkt, sobald CRP &gt; 10 mg/l</li> </ul>
		Schwangere: 105 mg/d			30 – 53 µg/10 <sup>8</sup> Leukozyten	Mangel: < 11 µmol/l			
Vitamin D (Cholecalciferol)	♂ 2,9 µg/d ♀ 2,2 µg/d	< 1 Jahr: 10 µg/d <sup>d</sup> (≥400 IE)	In µg-Äquivalent (VDE)/d: Jugendliche und Erwachsene ab 11 Jahren 100 µg  Kinder 1 – 10 Jahre: 50 µg	Calcidiol (25-Hydroxycholecalciferol, 25-[OH]D)	> 75 nmol/l	Mangel: 50 – 75 nmol/l <sup>d</sup> (≥20 – 30 ng/ml)	Serum	LC-MS/MS (+)  CLIA (-)  ELISA (-)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Probenextraktion zur Trennung von der Proteinfraktion mindert Matrixeffekte</li> </ul>
		> 1 Jahr: 20 µg/d (≥800 IE)			1,25-(OH) <sub>2</sub> -D <sub>3</sub>	25 – 86,5 pmol/ml			
Vitamin E (Tocopherol)	♂ 13,7 mg/d ♀ 12 mg/d	Jugendliche und Erwachsene: 15 – < 25 Jahre: ♂ 15 mg/d ♀ 12 mg/d  25 – < 51 Jahre: ♂ 14 mg/d ♀ 12 mg/d  Schwangere: 13 mg/d  Stillende: 17 mg/d		Alpha-Tocopherol	20 – 30 µmol/l <sup>c, e</sup>		Plasma	HPLC-FLD (+)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Messwerte müssen abhängig von den Gesamtlipiden bewertet werden</li> <li>• Mangel bei &lt; 0,8 mg/g Gesamtlipide</li> </ul>
Vitamin B <sub>1</sub> (Thiamin)	♂ 1,6 mg/d ♀ 1,2 mg/d	≈ 0,5 mg Thiamin/d pro 1000 kcal	Nicht definiert	Thiaminpyrophosphat (TPP)	70 – 180 nmol/l		Vollblut/ Erythrozyten	HPLC-FLD (+)  LC-MS/MS (+)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Präanalytik &amp; Probenahme sollten lichtgeschützt erfolgen</li> </ul>
						Plasma/ Serum			
		Erwachsene: ♂ 1,1 – 1,3 mg/d ♀ 1,0 mg/d  Schwangere:  1. Trimester: 1,2 mg/d  Ab 2. Trimester: 1,3 mg/d			24 h-Urin oder Einzelprobe: renale Thiaminausscheidung: > 66 µg/g Kreatinin	Leichte Überversorgung: 27 – 66 nmol/g Kreatinin  Marginaler Mangel: 27 – 65 nmol/g Kreatinin  Mangelzustand: < 27 nmol/g Kreatinin	Urin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abschätzung der Zufuhr durch die Ernährung, nicht aber zur Beurteilung des Status</li> <li>• Aufwendig, wenig sensitiv</li> </ul>	
	Transketolase-Aktivität	Aktivitätskoeffizient: 1,00 – 1,15	Marginaler Mangel: 1,16 – 1,24  Mangelzustand: > 1,25	Erythrozyten	ETKac (-)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aktivität nach Zusatz von TPP oft falsch positiv!</li> <li>• Schwer zu interpretieren</li> <li>• Schwacher Zusammenhang zwischen Aktivierbarkeit der Transketolase und dem Thiamin-Versorgungszustand</li> </ul>			

Vitamin	Mittlere Zufuhr (gemäß NVS II)	D-A-CH-Referenzwert Zufuhr	Tolerable Upper Intake Level (UL)	ANALYTIK DER BIOMARKER					
				Biomarker	Normalbereich	Abweichungen vom Normalbereich	Matrix	Methode Bewertung *	Bemerkungen
<b>PUFA: Linolsäure (Omega-6)</b>	k. A.	Säuglinge und Kinder bis 4 Jahre: 4–3 % <sup>f</sup>  Jugendliche und Erwachsene: 2,5 % <sup>f</sup>  Schwangere <sup>g</sup> : 2,5 % <sup>f</sup>  Stillende <sup>g</sup> : 2,5 % <sup>f</sup>  Alle: 0,5 % <sup>f</sup>		Omega-3-Index (Summe DHA + EPA)	> 8 % der Gesamtfettsäuren		Erythrozyten	GC-FID/GC-MS (+)	• Die Bestimmung der Fettsäuren aus Serum zeigt hohe ernährungsbedingte Schwankungen
<b>α-Linolen-säure (Omega-3)</b>				ALA	> 0,3% der Gesamtfettsäuren				

## LEGENDE

\* Bewertung gemäß der verwendeten Literatur

- a 1 µg Retinolaktivitätsäquivalent (retinol activity equivalent, RAE) = 1 µg Retinol = 12 µg β-Carotin = 24 µg andere Provitamin-A-Carotinoide  
veraltet: 1 mg Retinol-Äquivalent (RE) = 1 mg Retinol = 6 mg all-trans-β-Carotin = 12 mg andere Provitamin A-Carotinoide
- b 1 mg/dl Ascorbinsäure = 56.78 µmol/l; 1 µmol/l Ascorbinsäure= 0.0176 mg/dl
- c 1 mg RRR-α-Tocopherol-Äquivalent = 1 mg RRR-α-Tocopherol = 1,49 IE; 1 IE = 0,67 mg RRR-α-Tocopherol = 1 mg all-rac-α-Tocopherylacetat
- d Vitamin D (25-[OH]D): 1 IE = 0,025 µg; 1 µg = 40 IE; 1 nmol/l = 0,4 ng/ml; 1 ng/ml = 2,5 nmol/l
- e Schätzwert
- f % Gesamtenergieaufnahme
- g Schwangeren und Stillenden werden zusätzlich 200 mg/d DHA empfohlen

## Abkürzungen

CLIA	Chemilumineszenz-Immunoassay
CRP	C-reaktives Protein
ECD	Elektrochemischer Detektor
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ETKac	Erythrocyte Transketolase activity coefficient
FLD	Fluoreszenzdetektor
GC-FID	Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor
GC-MS	Gaschromatography-mass spectrometry
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry
MBA	Mikrobiologischer Assay
NIH/IOM	National Institutes of Health/Institute of Medicine
UV	Ultraviolett-detektor

## Laboranalytik von Biomarkern

Bei der Bestimmung von Biomarkern wird zwischen der direkten und der indirekten Messung unterschieden. Während bei der direkten Bestimmung der Biomarker oder einer seiner Metabolite z. B. im Vollblut, Serum, Erythrozyten oder Urin quantifiziert wird, werden bei indirekten Methoden z. B. enzymatische oder mikrobiologische Umsetzungen bestimmt, die in Korrelation zum Status des Biomarkers stehen.

Je nach Biomarker sollte eine geeignete Matrix für die Analyse ausgewählt werden.

Ein besonderes Augenmerk sollte der Präanalytik gelten. Viele Biomarker sind instabil und die Proben müssen gefroren und/oder lichtgeschützt oder gegen Sauerstoffeinfluss geschützt zum analysierenden Labor transportiert werden. Eine genaue Abklärung der Modalitäten sollte mit der Laborärztin bzw. dem Laborarzt vorgenommen werden. Personen, bei denen Messungen durchgeführt werden sollen, sollten im Regelfall morgens nüchtern, d. h. zwölf Stunden ohne Nahrungszufuhr und vor der Einnahme von Medikamenten zur Blutabnahme erscheinen.



## Bewertung von Biomarkern und Selbsttests

Dieser Artikel soll verdeutlichen, dass die Bestimmung von Biomarkern und die Bewertung der Ergebnisse durch qualifiziertes Fachpersonal erfolgen muss. Durch ein kleines bzw. großes Blutbild wird die Diagnosestellung einer Unterversorgung bzw. einer Mangelernährung mit (Mikro-) Nährstoffen meist nur unzureichend unterstützt, da die entsprechenden Biomarker selbst im großen Blutbild nicht standardmäßig erfasst werden. Auch präklinische Symptome sind meist unspezifisch und können durch eine Vielzahl von Faktoren ausgelöst werden. In manchen Fällen ist neben einer Anamnese eine differenzierte Analyse verschiedener Biomarker nötig, um belastbare Aussagen über den Nährstoffstatus treffen zu können. Die beiden Vitamine B<sub>12</sub> und Folsäure zeigen, wie komplex die Auswahl von Biomarkern sowie Bewertung der Messergebnisse sein kann. In der Folge der Bewertung kann entschieden werden, ob eine Ernährungs- bzw. Lebensstiländerung, eine Supplementierung mit Nährstoffen oder weitere Maßnahmen zur Therapie eines Mangels nötig sind.

Die Auswahl der Vitamine in diesem Artikel ist subjektiv erfolgt und erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Wir haben jedoch versucht, die Nährstoffe zu diskutieren, welche in der Literatur oder von Fachgesellschaften als kritisch angesehen werden.

Eine Reihe von Selbsttests für die Analyse von Biomarkern ist freiverkäuflich und kann, meist über das Internet, erworben werden. Für direkte Messungen aus dem Urin werden dem Kunden Schnelltests durch Teststreifen oder lateral flow devices (LFD) angeboten. Die Ergebnisse dieser Tests sind meist nur semi-quantitativ (Schätzwerte) und können ggf. durch Störfaktoren (z. B. einer Bakterieninfektion etc.) verfälscht werden. Weiterhin wird eine Reihe von Bluttests angeboten, bei denen die Kundin bzw. der Kunde sich selbst Blut mit Hilfe einer Lanzette aus der Fingerspitze abnimmt. Das Blut wird auf eine Testfläche gegeben und der getrocknete Tropfen zu einem Labor zur Analyse versendet. Diese Art von Bluttests suggeriert eine genaue und verlässliche Analyse, birgt aber auch eine Reihe von Fehlerquellen. So können z. B. durch das Drücken der Fingerbeere Erythrozyten zerstört werden, was bei der Analyse zu Fehlern führen kann. Daher ist es besser, die Blutabnahme durch geeignetes Fachpersonal durchführen zu lassen.

Außerdem entfällt mit der Durchführung von Selbsttests die kritische Bewertung der Ergebnisse durch eine Ärztin bzw. einen Arzt und/oder eine Ernährungsfachkraft.

# Glossar

## A) HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

Die Probenbestandteile werden mit Hilfe einer mobilen Phase durch eine Säule mit stationärer Phase gepumpt. In Abhängigkeit ihrer physikochemischen Eigenschaften und der damit einhergehenden Wechselwirkungen mit der stationären Phase werden die Bestandteile zeitaufgelöst aufgetrennt. In Kombination mit einem Massenspektrometer (siehe unten) wird diese Methode auch als Referenzmethode eingesetzt.

## B) GC (*Gaschromatographie*)

In einer GC wird die Probe mit Hilfe einer gasförmigen mobilen Phase (hier werden Trägergase wie Wasserstoff, Helium oder Stickstoff verwendet) und einer flüssigen stationären Phase aufgetrennt. Voraussetzung ist, dass sich der Analyt unzerstört verdampfen lässt.

### Detektoren für HPLC und GC:

<b>UV/VIS</b> ( <i>ultraviolet/visible</i> )	Misst die Extinktion einer Probe im ultravioletten und/oder sichtbaren Bereich.
<b>ECD</b> ( <i>Elektrochemische Detektion</i> )	Misst den elektrischen Strom, der durch Oxidations- oder Reduktionsreaktionen entsteht, wenn die eluierten elektrochemisch aktiven Substanzen eine Elektrode passieren.
<b>FLD</b> ( <i>Fluoreszenz</i> )	Misst das emittierte Licht einer Verbindung nach Anregung durch Licht einer bestimmten Wellenlänge. Kann auch von gekoppelten, fluoreszierenden Markern sein (↑ selektiv und empfindlich).
<b>FID</b> ( <i>Flammenionisationsdetektor</i> )	Vor allem für die GC. Verbrennt und ionisiert organische Kohlenwasserstoffe. Die Erhöhung des dadurch entstehenden Stromflusses wird registriert.

## C) Kopplung der HPLC/GC mit einem Massenspektrometer (LC-MS; GC-MS) (*Liquid chromatography-mass spectrometry*)

Bei der Kopplung mit einem Massenspektrometer werden die Analyten im ersten Schritt von der HPLC oder der GC aufgetrennt. Im zweiten Schritt wird durch das Massenspektrometer das Verhältnis von Masse zu Ladung und damit die molekulare Masse identifiziert.

Die Weiterentwicklung dieser Methode ist die *Tandem-Massenspektrometrie* (LC-MS/MS), durch welche die Ionen noch gezielter selektiert und detektiert werden können.

### Vorteile

- ↑ Selektivität
- ↑ Sensitivität, ↑ Spezifität
- ↓ Nachweisgrenzen im ng/l-Bereich
- ↑ Robustheit
- ↓ Analysenzeit
- > 1 Analyt gleichzeitig von GC, HPLC und MS

### Nachteile

- ↑ Kosten (Anschaffung & Verbrauchsmaterial)
- ↑ apparativer Aufbau
- ↑ personeller Aufwand
- ↑ anfällig für Verschmutzungen
- Interpretation der Spektren (bes. MS) erfordert Erfahrung
- die GC hat eine eingeschränkte Auswahl der möglichen Analyten

**D) (Enzym)Immunoassay (EIA)**

Der gesuchte Analyt wird durch spezifische Antigen-Antikörper-Reaktionen detektiert. Die Kopplung der beiden Reaktionspartner wird mit Hilfe von Enzymen (z. B. Meerrettichperoxidase, alkalische Phosphatase) visuell durch Photometrie, Luminometrie o. ä. detektiert und quantifiziert

**Vorteile**

- einfach und automatisiert anwendbar
- schnell

**Nachteile**

- Nachteile
- High-Dose-Hook-Effekt (zu niedriges oder falsch-negatives Ergebnis bei ↑ Konzentrationen des Analyten)
- Matrixeffekte möglich

**Immunoassays nach Art des Signals:****ELISA**  
**(Enzyme-linked immunosorbent assay)**

Das Signal liefert das gekoppelte Enzym durch ein farbiges Substrat (Absorptionsmessung).

**FIA**  
**(Fluorescent Immunoassay)**

Fluoreszenzfarbstoffe geben das Signal ab, welches durch ein Fluorometer gemessen wird.

**RIA**  
**(Radio-Immunoassay)**

Das Signal wird durch die Strahlung eines radioaktiven Antigens erzeugt. Gemessen wird mit Gamma-Zählern.

**CLIA**  
**(Chemilumineszenz-Immunoassay)**

Ein enzymatisch umgesetztes Produkt emittiert eine Chemilumineszenz, die detektiert und quantifiziert wird.

**E) Mikrobiologischer Nachweis (MBA)**

Das Wachstum von Mikroorganismen, für die das zu quantifizierende Vitamin obligat ist, wird durch Zugabe der Probe in die Nährlösung beobachtet und z. B. turbidimetrisch oder titrimetrisch gemessen.

**Vorteile**

- automatisierbar im 96-Well-Format
- ↑ Robustheit
- ↑ Sensitivität
- ↓ Kosten und Aufwand
- *Lactobacillus rhamnosus*: detektiert die Gesamtheit der Folate und folataktiven Substanzen

**Nachteile**

- Antibiotika-Einnahme kann stören
- nur für wenige Analyten geeignet

# Literaturempfehlungen

Berger M M, Shenkin A, Schweinlin A, Amrein K, Augsburg M, Biesalski H K, Bischoff S C, Casaer M P, Gundogan K, Lepp H-L, de Man A, Muscogiuri G, Pietka M, Pironi L, Rezzi S, Cuerda C (2022): ESPEN micronutrient guideline. Clinical Nutrition 41 (6): 1357-1424. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2022.02.015> (letzter Zugriff 25.08.2023)

Hofmann L (2017): Update Fette: Bedeutung für Ernährung und Gesundheit. Ernährung im Fokus 03-04: 68-77. [https://www.bzfe.de/fileadmin/user\\_upload/eif\\_170304\\_update\\_fette.pdf](https://www.bzfe.de/fileadmin/user_upload/eif_170304_update_fette.pdf) (letzter Zugriff 25.08.2023)

Bechthold A, Albrecht V, Leschik-Bonnet E, Hesecker H (2012): Beurteilung der Vitaminversorgung in Deutschland. Ernährungs Umschau 59: 324-336. DOI: 10.4455/eu.2012.974

Röhrig G, Gütgemann I, Kolb G, Leischker A (2018): Klinisch-hämatologisches Bild des Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels im Alter. Z Gerontol Geriat 51 : 446-452. <https://doi.org/10.1007/s00391-018-1410-z> (letzter Zugriff 25.08.2023)

Max Rubner-Institut (2008): Nationale Verzehrsstudie II. <https://www.mri.bund.de/de/institute/ernaehrungsverhalten/forschungsprojekte/nvsii/erg-verzehr-naehrstoffe> (letzter Zugriff 25.08.2023)

Biesalski H K (2019): Vitamine, Spurenelemente und Minerale – Indikation, Diagnostik, Therapie. 2. aktualisierte und erweiterte Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart



**Herausgeber**  
Arbeitskreis Nahrungsergänzungsmittel  
(AK NEM) im Lebensmittelverband  
Deutschland e. V.  
Postfach 06 02 50, 10052 Berlin  
Claire-Waldoff-Straße 7, 10117 Berlin  
Telefon: +49 30 206143-0  
[aknem@lebensmittelverband.de](mailto:aknem@lebensmittelverband.de)

**Autoren/Kontakt:**  
Dipl. Troph. Inga Richter  
Prof. Dr. habil. Marc Birringer  
Fachbereich Oecotrophologie an der  
Hochschule Fulda

Gestaltung: Ariane Skibbe, DFY Berlin

[www.nahrungsergaenzungsmittel.org](http://www.nahrungsergaenzungsmittel.org)