



universität  
wien

# DISSERTATION

Titel der Dissertation

„Status und Aufnahme an wasserlöslichen Vitaminen bei  
österreichischen Kindern, Erwachsenen und Senioren“

verfasst von

Mag. Ninja-Maria Weidl

angestrebter akademischer Grad

Doktorin der Naturwissenschaften (Dr. rer.nat)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 791 474

Dissertationsgebiet lt. Studienblatt: Ernährungswissenschaften

Betreuer: Emer. o. Univ.-Prof. Dr. Ibrahim Elmada



Die Arbeit wurde vom Bundesministerium für Gesundheit (BMG) im Rahmen der „Österreichischen Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012“ unterstützt.

Zur einfachen Lesbarkeit wurde eine geschlechtsneutrale Schreibweise verwendet. Bei Nennung der männlichen Form gilt diese immer gleichwertig für Frauen und Männer.

Ich habe mich bemüht, sämtliche Inhaber der Bildrechte ausfindig zu machen und ihre Zustimmung zur Verwendung der Bilder in dieser Arbeit eingeholt. Sollte dennoch eine Urheberrechtsverletzung bekannt werden, ersuche ich um Meldung bei mir.

## **Danksagung**

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Betreuer, Herrn Emer. Prof. Dr. Elmadfa, der mir ermöglichte die vorliegende Arbeit zu verfassen und mir durch seinen Rat und seine Expertise zur Hilfe stand.

Ein ganz besonderer Dank gilt dem Projektteam „Österreichischer Ernährungsbericht 2012“ und allen Kolleginnen und Kollegen am Institut für Ernährungswissenschaften, die mich nicht nur kollegial, sondern auch freundschaftlich unterstützten und somit ein produktives und angenehmes Arbeitsumfeld schafften.

Meiner Familie und meinen Freunden möchte ich natürlich auch herzlich danken, da sie immer für mich da waren, und mir die notwendige moralische Unterstützung gaben.

Mein Dank gilt auch allen Studienteilnehmern.



## **INHALTSVERZEICHNIS**

Inhaltsverzeichnis.....	I
Tabellenverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	IX
1 Einleitung und Fragestellung.....	1
2 Literaturübersicht.....	4
2.1 Nährstoffe .....	4
2.2 Nährstoffbedarf.....	4
2.3 Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr .....	5
2.4 Biochemische Parameter (Biomarker).....	7
2.4.1 Versorgungsparameter (VP).....	8
2.4.2 Funktionsparameter (FP) .....	8
2.5 Wasserlösliche Vitamine .....	8
2.5.1 Vitamin B <sub>1</sub> .....	9
2.5.2 Vitamin B <sub>2</sub> .....	12
2.5.3 Vitamin B <sub>6</sub> .....	15
2.5.4 Vitamin B <sub>12</sub> .....	19
2.5.5 Fолат.....	24
2.5.6 Vitamin C .....	31
2.6 Erfassung und Beurteilung des Status wasserlöslicher Vitamine .....	35
2.6.1 Referenzwerte der Biomarker zur Statusbeurteilung.....	37
2.7 Ausgewählte Einflussfaktoren des Lebenstils .....	40
2.7.1 Supplementierung.....	40

2.7.2 Tabakkonsum .....	41
2.7.3 Medikamenteneinnahme .....	42
2.7.4 Alkoholkonsum .....	43
3 Methoden.....	45
3.1 Studiendesign.....	45
3.2 Angewandte Erhebungsmethoden .....	46
3.2.1 Fragebogen .....	46
3.2.2 Verzehrserhebungen.....	48
3.2.3 Anthropometrische Untersuchungen.....	50
3.2.4 Biochemische Untersuchungen .....	50
3.3 Ein- und Ausschlusskriterien .....	50
3.4 Probenaufbereitung und Lagerung.....	51
3.4.1 Plasma .....	51
3.4.2 Erythrozyten.....	51
3.4.3 Harn.....	51
3.5 Untersuchte biochemische Parameter und Qualitätskriterien .....	52
3.6 Biochemische Analysemethoden.....	52
3.6.1 Bestimmung von Vitamin B <sub>1</sub> im Harn .....	52
3.6.2 Bestimmung der Aktivität der Vitamin B <sub>1</sub> -abhängigen erythrozytären Transketolase (ETK).....	54
3.6.3 Bestimmung von Vitamin B <sub>2</sub> im Harn .....	57
3.6.4 Bestimmung der Aktivität der Vitamin B <sub>2</sub> -abhängigen erythrozytären Glutathionreduktase (EGR) .....	58
3.6.5 Bestimmung von Vitamin B <sub>6</sub> im Plasma.....	61

3.6.6 Bestimmung der Aktivität der Vitamin B <sub>6</sub> -abhängigen erythrozytären Aspartataminotransferase (EAST) .....	62
3.6.7 Bestimmung von Vitamin B <sub>12</sub> und Folsäure im Plasma.....	64
3.6.8 Bestimmung von Homocystein im Plasma.....	66
3.6.9 Bestimmung von Vitamin C im Plasma .....	69
3.6.10 Bestimmung von Kreatinin im Harn.....	70
3.6.11 Verwendete Chemikalien.....	72
3.7 Statistische Auswertung.....	74
4 Ergebnisse und Diskussion .....	77
4.1 Allgemeine Merkmale der Stichprobe .....	77
4.1.1 Alter und Geschlecht.....	77
4.1.2 Bildungsniveau, Berufsgruppen, Familienstand und Wohngebiet .....	77
4.1.5 Body Mass Index (BMI) .....	79
4.2 Versorgungssituation der wasserlöslichen Vitamine bei österreichischen Kinder, Erwachsenen und Senioren .....	80
4.2.1 Vitamin B <sub>1</sub> -Versorgung.....	80
4.2.2 Vitamin B <sub>2</sub> -Versorgung.....	88
4.2.3 Vitamin B <sub>6</sub> -Versorgung.....	96
4.2.4 Vitamin B <sub>12</sub> -Versorgung .....	105
4.2.5 Folatversorgung .....	112
4.2.6 Vitamin C-Versorgung .....	120
4.3 Auswirkungen der ausgewählten Einflussfaktoren des Lebensstil auf den Status der wasserlöslichen Vitamine .....	124
4.3.1 Supplementierung.....	125
4.3.2 Tabakkonsum .....	127

4.3.3 Medikamenteneinnahme .....	128
4.3.4 Alkoholkonsum .....	130
5 Schlussfolgerung .....	132
5.1 Limitationen .....	133
5.2 Ausblick .....	134
6 Zusammenfassung .....	136
7 Abstract .....	138
8 Literatur.....	140
9 Anhang .....	162
9.1 Curriculum Vitae .....	162

## **TABELLENVERZEICHNIS**

Tab. 1: Empfohlene Vitamin B <sub>1</sub> -Zufuhr (mg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren ..	12
Tab. 2: Empfohlene Vitamin B <sub>2</sub> -Zufuhr (mg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren ..	15
Tab. 3: Empfohlene Vitamin B <sub>6</sub> -Zufuhr (mg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren ..	18
Tab. 4: Empfohlene Vitamin B <sub>12</sub> -Zufuhr (µg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren ..	23
Tab. 5: Empfohlene Folatzufuhr (µg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren .....	28
Tab. 6: Empfohlene Vitamin C-Zufuhr (mg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren ...	34
Tab. 7: Referenzwerte der Biomarker zur Statusbeurteilung und zugrundeliegende Literaturangaben.....	39
Tab. 8: Ein- und Ausschlusskriterien .....	50
Tab. 9: Übersicht der biochemischen Parameter (Versorgungs- und Funktionsparameter), Analysemethoden und Qualitätssicherung .....	52
Tab. 10: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Vitamin B <sub>1</sub> im Harn .....	53
Tab. 11: Pipettierschema des Aktivierungstests der Transketolase in den Erythrozyten (ETK) .....	56
Tab. 12: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Vitamin B <sub>2</sub> im Harn .....	57
Tab. 13: Pipettierschema des Aktivierungstests der Glutathionreduktase in den Erythrozyten (EGR).....	60
Tab. 14: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Vitamin B <sub>6</sub> im Plasma....	61
Tab. 15: Pipettierschema des Aktivierungstests der erythrozytären Aspartataminotransferase (EAST) .....	64
Tab. 16: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Homocystein im Plasma	67
Tab. 17: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Vitamin C im Plasma ....	69
Tab. 18: Pipettierschema der Kreatininbestimmung im Harn .....	71
Tab. 19: Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen .....	77
Tab. 20: Bildungsniveau, Berufsgruppen, Familienstand und Wohngebiet der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen.....	78
Tab. 21: BMI-Klassifikation der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen .....	79

Tab. 22: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Thiaminaufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht .....	81
Tab. 23: Vitamin B <sub>1</sub> -Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin B <sub>1</sub> -Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht .....	83
Tab. 24: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Riboflavaufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht .....	89
Tab. 25: Vitamin B <sub>2</sub> -Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin B <sub>2</sub> -Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht .....	91
Tab. 26: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Vitamin B <sub>6</sub> -Aufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht .....	97
Tab. 27: Vitamin B <sub>6</sub> -Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin B <sub>6</sub> -Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht .....	99
Tab. 28: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Vitamin B <sub>12</sub> -Aufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht .....	105
Tab. 29: Vitamin B <sub>12</sub> -Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin B <sub>12</sub> -Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht .....	107
Tab. 30: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Folataufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht .....	113
Tab. 31: Folataufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Folatbedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht .....	116
Tab. 32: Versorgungsparameter und die tägliche Vitamin C-Aufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht .....	121
Tab. 33: Vitamin C-Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin C-Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht .....	122
Tab. 34: Häufigkeit des Konsums von Supplementen, Medikamenten, Tabak und Alkohol im Studienkollektiv, gesamt und getrennt nach Geschlecht .....	125
Tab. 35: Einfluss der Nährstoffsupplementierung auf den Status der wasserlöslichen Vitamine bei Erwachsenen und Senioren (n=493) .....	126
Tab. 36: Einfluss der Medikamenteneinnahme auf den Status der wasserlöslichen Vitamine bei Erwachsenen und Senioren (n=494) .....	129

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abb. 1: Strukturformel von Thiamin .....	9
Abb. 2: Strukturformel von Riboflavin .....	12
Abb. 3: Strukturformel von Pyridoxin, Pyridoxal und Pyridoxamin .....	15
Abb. 4: Strukturformel von Vitamin B <sub>12</sub> .....	19
Abb. 5: Strukturformel von Folsäure .....	24
Abb. 6: Stoffwechsel von Homocystein .....	30
Abb. 7: Strukturformel von L-(+)-Ascorbinsäure.....	31
Abb. 8: Probenvorbereitungsschema der Vitamin B <sub>1</sub> -Bestimmung im Harn .....	54
Abb. 9: Die Bewertung des Vitamin B <sub>1</sub> -Status der Kinder (n=346/366), Erwachsenen (n=412/415) und Senioren (n=165/193) anhand der Thiaminausscheidung über den Harn (VP) und der Aktivierbarkeit der Transketolase in den Erythrozyten (FP).....	82
Abb. 10: Thiaminausscheidung über den Harn in Bezug zur Thiaminzufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) .....	85
Abb. 11: Aktivierungskoeffizient der Transketolase in den Erythrozyten ( $\alpha$ -ETK) in Bezug zur Thiaminzufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) .....	86
Abb. 12: Die Bewertung des Vitamin B <sub>2</sub> -Status der Kinder (n=347/368), Erwachsenen (n=413/412) und Senioren (n=166/194) anhand der Riboflavinausscheidung über den Harn (VP) und der Aktivierbarkeit der Glutathionreduktase in den Erythrozyten (FP)..	90
Abb. 13: Riboflavinausscheidung über den Harn in Bezug zur Riboflavinzufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) .....	93
Abb. 14: Aktivierungskoeffizient der Glutathionreduktase in den Erythrozyten in Bezug zur Riboflavinzufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) .....	94

Abb. 15: Die Bewertung des Vitamin B <sub>6</sub> -Status der Kinder (n=367/363), Erwachsenen (n=414/412) und Senioren (n=193/192) anhand der Pyridoxal-5-Phosphatkonzentration im Plasma (VP) und der Aktivierbarkeit der Aspartataminotransferase in den Erythrozyten (FP) .....	98
Abb. 16: Pyridoxal-5-Phosphat im Plasma in Bezug zur Vitamin B <sub>6</sub> -Zufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) ...	101
Abb. 17: Aktivierungskoeffizient der Aspartataminotransferase in den Erythrozyten in Bezug zur Vitamin B <sub>6</sub> -Zufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) .....	102
Abb. 18: Die Bewertung des Vitamin B <sub>12</sub> -Status der Kinder (n=367), Erwachsenen (n=418) und Senioren (n=174) anhand der Vitamin B <sub>12</sub> -Konzentration im Plasma .....	106
Abb. 19: Vitamin B <sub>12</sub> im Plasma in Bezug zur Vitamin B <sub>12</sub> -Zufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).....	109
Abb. 20: Die Bewertung des Folatstatus der Kinder (n=367), Erwachsenen (n=418) und Senioren (n=181) anhand der Folatkonzentration im Plasma.....	114
Abb. 21: Folat im Plasma in Bezug zur Folatzufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) .....	117
Abb. 22: Homocystein im Plasma in Bezug zur Folatzufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) .....	118
Abb. 23: Die Bewertung des Vitamin C-Status der Kinder (n=369), Erwachsenen (n=414) und Senioren (n=194) anhand der Vitamin C-Konzentration im Plasma.....	122
Abb. 24: Vitamin C im Plasma in Bezug zur Vitamin C-Zufuhr der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176) .....	123
Abb. 25: Einfluss des Tabakkonsums auf den Vitamin C-Status bei Erwachsenen und Senioren .....	128
Abb. 26: Einfluss von oralen Kontrazeptiva auf den Vitamin B <sub>12</sub> -Status bei Frauen....	130

## **ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

µCi	Mikrocurie
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol
5-Methyl-THF	5-Methyltetrahydrofolat
95% CI	95%iges Konfidenzintervall
C°	Grad Celcius
DB	durchschnittlicher Bedarf
DRI	dietary reference intake
EALT	erythrozytäre Alaninaminotransferase
EAST	erythrozytäre Aspartataminotransferase
EGR	erythrozytäre Glutathionreduktase
EPCs	erythrocyte packed cells
ETK	erythrozytäre Transketolase
EZ	empfohlene Zufuhr
FÄ	Folatäquivalent
FAD	Flavinadenindinucleotid
FMN	Flavinmononucleotid
FP	Funktionsparameter
holoTC	Holotranscobalamin
IQR	Interquartilrange
IS	interner Standard
ISCED	international standard classification of education
kBq	Kilobequerel
l	Liter
MDH	Malatdehydrogenase
min	Minuten
ml	Milliliter

mmol	Millimol
mol	Mol
MTHFR	Methylentetrahydrofolatreduktase
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
nm	Nanometer
nmol	Nanomol
PGA	Pteroylmonoglutaminsäure
pH	potentia Hydrogenii
PLP	Pyridoxal-5-Phosphat
PMP	Pyridoxamin-5-Phosphat
PRI	populational reference intake
Q1	1. Quartil
Q2	2. Quartil
Q3	3. Quartil
Q4	4. Quartil
RDA	recommended dietary allowance
RDI	recommended dietary intake
RI	recommended intake
RNI	recommended nutrient intake
SD	Standardabweichung
SW	Schätzwert
TC	Transcobalamin
TDP	Thiamindiphosphat
THF	5, 6, 7, 8-Tetrahydrofolsäure
TMP	Thiaminmonophosphat
TPP	Thiaminpyrophosphat
TPP	Thiamintriphosphat
UL	upper level, tolerable upper intake level
VP	Versorgungsparameter

WHO	World Health Organization
$\alpha$ -EAST	Aktivierungskoeffizient der erythrozytären Aspartatamino-transferase
$\alpha$ -EGR	Aktivierungskoeffizient der erythrozytären Glutathionreduktase
$\alpha$ -ETK	Aktivierungskoeffizient der erythrozytären Transketolase



## **1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG**

Die Ernährung ist ein wichtiger Einflussfaktor auf die Gesundheit und Leistungsfähigkeit des Menschen und spielt eine wesentliche Rolle bei der Entstehung von nicht übertragbaren Erkrankungen.

Ernährungserhebungen sind notwendig, um die Ernährungssituation einer Bevölkerung zu bewerten und mittels regelmäßiger Dokumentation Trends aufzuzeigen, sodass kausale Zusammenhänge zwischen Ernährung und Krankheiten festgestellt und damit gesundheitsfördernde und präventive Maßnahmen gesetzt werden können. Ernährungserhebungen können neben anthropometrischen Messungen auch Ernährungs- und Gesundheitsindikatoren umfassen. Um die tatsächliche Versorgungslage spezifischer Nährstoffe in einer Bevölkerung zu ermitteln, sind jedoch biochemische Untersuchungen aus Blut- und Harnproben notwendig, da sie eine objektive Einschätzung der tatsächlichen Versorgungssituation ermöglichen, ohne von Bias der Studienteilnehmer beeinträchtigt zu werden [GIBSON, 2005].

Inhalt der vorliegenden Arbeit ist die Erfassung des Status der wasserlöslichen Vitamine in der österreichischen Bevölkerung anhand spezifischer Biomarker, deren Interpretation und die Diskussion der aktuell gültigen Referenzwerte in Österreich [D-A-CH, 2012]. Die vorliegenden Daten wurden im Rahmen der *Österreichischen Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012*, einer vom *Institut für Ernährungswissenschaften* der *Universität Wien* im Auftrag des *Bundesministeriums für Gesundheit* (BMG) durchgeführten Querschnittsstudie, erhoben. Die biochemischen Parameter zur Statusbestimmung sollen die kurz- und längerfristige Versorgungssituation derart aufzeigen, dass die Früherkennung eines möglichen Mangels schon vor dem Erscheinen von mangelspezifischen Symptomen möglich wird. Weiters kann durch einen Vergleich der mit der Nahrung aufgenommenen Nährstoffmenge und der durch die biochemische Analyse ermittelten Versorgungssituation des Nährstoffes im

menschlichen Körper abgeschätzt werden, inwieweit die Empfehlungen der Nährstoffaufnahme dem tatsächlichen Bedarf entsprechen.

Die aktuell gültigen Aufnahmeempfehlungen der wasserlöslichen Vitamine für verschiedene Bevölkerungsgruppen wurden bisherig von veröffentlichten biochemisch ermittelten Daten der Erwachsenen abgeleitet. Aus diesem Grund wurde die Versorgungssituation der Kinder, Erwachsenen und Senioren in der vorliegenden Arbeit biochemisch erfasst, um so den individuellen Nährstoffbedarf jeder Bevölkerungsgruppe zu dokumentieren, Risikogruppen zu identifizieren und valide Empfehlungen für die Nährstoffaufnahme abgeben zu können.

Der Status der wasserlöslichen Vitamine wurde durch spezielle Biomarker flächendeckend auf nationaler Ebene in Österreich bis jetzt noch nicht erfasst. Es existieren zahlreiche exemplarische Studien an einzelnen Personengruppen oder anhand von ausgewählten Nährstoffen, jedoch eine umfassende Beurteilung des Status der wasserlöslichen Vitamine in der österreichischen Bevölkerung, aber auch in anderen Ländern, wurde nicht oder nur sehr selten durchgeführt. Wie im European Nutrition and Health Report 2009 ersichtlich wurde [ELMADFA et al., 2009], kamen in epidemiologischen Querschnittsstudien Instrumente zur Messung der Nährstoffaufnahme häufig zum Einsatz, wohingegen biochemische Parameter nur sehr selten erfasst wurden. Da jedoch die Empfehlungen für die Nährstoffaufnahme auf den biochemisch ermittelten Daten basieren, sind diese notwendig, um lebensmittelbasierte Empfehlungen an die Bevölkerung abgeben zu können.

Die Hauptfragestellungen der vorliegenden Arbeit sind:

- Wie ist die Versorgung mit wasserlöslichen Vitaminen bei österreichischen Kindern, Erwachsenen und Senioren? Welche alters- und geschlechtsspezifischen Unterschiede können identifiziert werden?

- Können die aktuellen Aufnahmeempfehlungen [D-A-CH, 2012] den Nährstoffbedarf der verschiedenen Bevölkerungsgruppen decken?
- Welche Risikogruppen gibt es und beeinträchtigt der Konsum von Supplementen, Tabak, Medikamenten und Alkohol den Status der wasserlöslichen Vitamine?

## **2 LITERATURÜBERSICHT**

### **2.1 NÄHRSTOFFE**

*„Nährstoffe sind chemische Elemente und Verbindungen in der Nahrung, die in unveränderter Form oder umgewandelt zu körpereigenen Substanzen für den Ablauf sämtlicher Körperfunktionen einschließlich Fortpflanzung und Wachstum benötigt werden“ [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].*

Die Nährstoffe können folgendermaßen unterteilt werden:

- Makronährstoffe (Protein, Fett, Kohlenhydrat, Alkohol)
- Mikronährstoffe (Vitamine und Mineralstoffe)
- Ballaststoffe
- Wasser

Für die Energiebereitstellung und den Körperaufbau sind Makronährstoffe verantwortlich. Mikronährstoffe werden für unterschiedliche physiologische Funktionen des Körpers benötigt, sie sind wie die Ballaststoffe und Wasser in Hinblick auf die Energieversorgung nicht relevant [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

### **2.2 NÄHRSTOFFBEDARF**

Der Nährstoffbedarf einer Person wird als diejenige Menge eines Nährstoffs definiert, welche für die Aufrechterhaltung aller Körperfunktionen im Organismus und dadurch zur optimalen Gesundheit und Leistungsfähigkeit benötigt wird. Der Nährstoffbedarf kann in *Grundbedarf* (basal requirement) und *Bedarf zur Gewährleistung ausreichender Speicher* (normative storage requirement) differenziert werden. Der Grundbedarf eines Nährstoffes ist jene Menge, die benötigt wird, um klinisch nachweisbare Funktionsstörungen zu vermeiden. Der Bedarf zur Gewährleistung ausreichender Speicher ist jene Menge, die benötigt wird, um die Gewebevorräte aufrechtzuerhalten. In verschiedenen physiologischen Bedingungen (u. a. Schwangerschaft oder Wachstum) oder durch bestimmte Lebensstilfaktoren (u. a.

Rauch- oder Trinkverhalten) wird eine Steigerung des Grundbedarfs, also ein sogenannter *Mehrbedarf*, des jeweiligen Nährstoffes benötigt [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Um einen optimalen Ernährungsstatus zu erlangen, muss die Bilanz zwischen Nährstoffaufnahme und Nährstoffbedarf ausgeglichen sein. Zahlreiche Ernährungsfachgesellschaften formulieren Empfehlungen für die Nährstoffaufnahme für bestimmte Personengruppen (meist eine Einteilung nach Geschlecht und Alter), um deren Nährstoffbedarf zu decken [D-A-CH, 2012, DRI, 1998, NHMRC, 1991, NNR, 2004, NRC, 2006].

### **2.3 REFERENZWERTE FÜR DIE NÄHRSTOFFZUFUHR**

Die Gesellschaft für Ernährung in Deutschland (DGE), in Österreich (ÖGE) und in der Schweiz (SGE) geben eine zusammenfassende Empfehlung der Referenzwerte zur Nährstoffzufuhr heraus. Ziele der formulierten Referenzwerte sind die Erhaltung und Förderung der Gesundheit und Lebensqualität und sie sollen bei nahezu allen gesunden Personen der Bevölkerung die lebenswichtigen metabolischen, physischen und psychischen Funktionen sicherstellen. Die Referenzwerte beziehen sich auf die Menge des Nährstoffes, die zum Zeitpunkt des Verzehrs im Lebensmittel vorhanden ist, und berücksichtigen somit die Bioverfügbarkeit [D-A-CH, 2012].

Wissenschaftliche Gremien beispielsweise der Skandinavischen Länder [NNR, 2004], der USA [NRC, 2006] oder der World Health Organization [WHO, 2004] formulieren ähnliche Ziele. Sie unterscheiden sich jedoch häufig durch ihre empfohlene Menge der Nährstoffzufuhr, aber auch durch ihre verwendete Terminologie für die Nährstoffzufuhr. Die Referenzwerte der Nährstoffzufuhr für die Länder Deutschland, Österreich und Schweiz beinhalten einen sogenannten *durchschnittlichen Bedarf* (DB), welcher der durchschnittlichen Nährstoffzufuhr, die von 50 % der untersuchten gesunden Personen aus einer Geschlechts- und Altersgruppe benötigt wird, um den Nährstoffbedarf zu decken, entspricht. Der DB liefert die Grundlage der Nährstoffempfehlung. Die *empfohlene Zufuhr* (EZ) ist die tägliche Aufnahmemenge,

basierend auf dem DB plus der zweifachen Standardabweichung, welche benötigt wird, um den Nährstoffbedarf von fast allen Personen (97,5 %) in einer Gender- und Altersgruppe zu decken. Sollte die Standardabweichung nicht bekannt sein, kann ein Variationskoeffizient von 10—12,5 % angenommen werden [D-A-CH, 2012]. Die EZ der Mikronährstoffe bezieht sich auf die durchschnittliche Aufnahme über eine längere Zeit, da die Nährstoffaufnahme starken täglichen Schwankungen unterliegen kann [NRC, 2006]. Bei einigen Nährstoffen wurde ein *Schätzwert* (SW) definiert, der eine Schätzung der Zufuhrmenge für eine optimale Bedarfsdeckung angibt und sich auf Untersuchungen und Experimente stützt, aber nicht ausreichend abgesichert ist. Der SW wird dann verwendet, wenn die EZ nicht bestimmt werden kann [D-A-CH, 2012]. Das *Tolerable Upper Intake Level* (UL) soll hingegen einen Referenzwert als Obergrenze für die tägliche Nährstoffaufnahme (aus allen Quellen) schaffen, unter der kein erhöhtes Risiko einer nachteiligen Beeinträchtigung der Gesundheit besteht. Nicht für jeden Nährstoff wurde aufgrund seines Metabolismus oder durch die wissenschaftliche Datenlage ein UL definiert [EFSA, 2006].

Eine Vereinheitlichung der Terminologie würde internationale Vergleiche erleichtern und die Interpretation der Referenzwerte vereinfachen. Eine für diesen Zweck erstellte Publikation der *United Nations University* gibt ein derartiges Proposal heraus. Die sogenannten *nutrient intake values* (NIV) bestehen aus drei Komponenten, dem *average nutrient requirement* (ANR), dem *individual nutrient level* (INL<sub>x</sub>) und dem *upper nutrient level* (UNL). Das ANR entspricht dem durchschnittlichen Bedarf, das INL<sub>x</sub> der empfohlenen Zufuhr (das <sub>x</sub> gibt die Prozentzahl der Personen an die durch die aufgenommene Nährstoffmenge optimal versorgt wären, INL<sub>98</sub>: ANR+2SD) und das UNL entspricht dem Tolerable Upper Intake Level [KING et al., 2007].

Um nicht nur die Terminologie, sondern auch die empfohlene Zufuhr der Nährstoffe zu vereinheitlichen, wurde in Europa das *EUROpean micronutrient RECommendations Aligned Network of Excellence* (EURRECA) gegründet [MATTHYS et al., 2011]. Ziel dieses Netzwerks ist es, die Methoden zur Erfassung des Mikronährstoffbedarfs und

die daraus abgeleiteten Empfehlungen zur Nährstoffaufnahme zu vereinheitlichen, zu verbessern und zu optimieren [NOVAKOVIC et al., 2012].

Die Schwierigkeit bei der Erstellung von Referenzwerten zur optimalen Menge der Nährstoffaufnahme ist die Messung des Nährstoffbedarfs, der meist anhand von spezifischen biochemischen Parametern bestimmt wird und vielen Einflussfaktoren wie z. B. Geschlecht, Alter, Genetik, Umwelt und Lebensstil unterliegt [JENAB et al., 2009].

## **2.4 BIOCHEMISCHE PARAMETER (BIOMARKER)**

Ein Biomarker kann als biochemischer Indikator zur Nährstoffaufnahme sowie des Ernährungsstatus (lang- oder kurzfristig), als Index für den Metabolismus eines Nährstoffes oder als biologische Konsequenz der Nährstoffaufnahme definiert werden [POTISCHMAN und FREUDENHEIM, 2003].

Ein Biomarker ist ein immer häufiger verwendetes Instrument bei Ernährungserhebungen, da er eine objektive Einschätzung der tatsächlichen Versorgungssituation der einzelnen Nährstoffe geben kann, ohne von Bias der Studienteilnehmer beeinträchtigt zu werden. Die Verwendung von Biomarkern zur Messung eines Defizits durch Mangelexperimente wurde weitgehend von Biomarkern, die auf zell- bzw. molekularbiologischer Ebene fungieren, verdrängt. Vielmehr ist die Früherkennung eines möglichen Mangels oder die Darlegung der Versorgungssituation von Nährstoffen in den Vordergrund gerückt. Latente Mangelernährung verursacht bereits eine Veränderung des Stoffwechsels und kann durch Konzentrationen von Nährstoffen oder ihrer Metaboliten und Enzymaktivitäten aufgezeigt werden [JENAB et al., 2009].

Obwohl ein Biomarker viele Vorteile gegenüber anderen Ernährungserhebungsmethoden wie z.B. einem 24h-Recall besitzt, hat er meist auch Limitationen (u.a. durch die Methodik, Interpretation, allgemeine Aussagekraft) und sollte immer spezifisch für das Studiendesign gewählt werden [BINGHAM, 2002]. Aus

diesem Grund ist es schwierig, für den ausgewählten Nährstoff *einen* Biomarker als „Golden Standard“ zu definieren [HOOPER et al., 2009].

Biomarker zur Statusbeurteilung lassen sich in zwei Untertypen unterteilen: in den Versorgungsparameter und den Funktionsparameter.

#### **2.4.1 Versorgungsparameter (VP)**

Der Versorgungsparameter zeigt die Versorgung mit Nährstoffen durch die Messung von Nährstoffkonzentrationen, Transportformen oder Metaboliten in Blut, Harn oder Körperzellen. Ein VP wird meist für die Beurteilung der aktuellen Nährstoffversorgung angewandt [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

#### **2.4.2 Funktionsparameter (FP)**

Der Funktionsparameter gibt an, ob die Nährstoffe ihre Funktionen erfüllen und wird durch die Messung von Enzymaktivitäten oder Proteinwerten ermitteln. Ein FP wird meist nur längerfristig beeinflusst und eignet sich daher zur Bestimmung der längerfristigen Nährstoffversorgung [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Ähnlich der Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr gibt es auch für die Statusbeurteilung der Biomarker Referenzwerte, um die Daten bestmöglich interpretieren zu können (siehe Kapitel 2.6.1).

### **2.5 WASSERLÖSLICHE VITAMINE**

Vitamine zählen zu den essenziellen Mikronährstoffen und müssen über die Nahrung aufgenommen werden, damit sie im menschlichen Körper ihre physiologischen Funktionen erfüllen können. Ein Mangel der wasserlöslichen Vitamine kommt nur sehr selten isoliert vor, meist wird ein Defizit mehrerer Vitamine und eine eingeschränkte Gesundheit beobachtet [MCNULTY und SCOTT, 2008]. Gründe für einen Vitaminmangel können eine zu geringe Aufnahme, ein erhöhter Bedarf oder eine eingeschränkte Absorption sein [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Die Übersicht der wasserlöslichen Vitamine soll eine Zusammenfassung der wichtigsten Eckpunkte wie Definition, Chemie, Physiologie, Funktion und Mangel der einzelnen Vitamine geben, nicht aber eine vollständige Dokumentation liefern. Der Schwerpunkt dieser Arbeit ist die Erfassung des Vitaminstatus anhand spezifischer Biomarker, deren Interpretation und die Diskussion der aktuell gültigen Referenzwerte [D-A-CH, 2012]. Aus diesem Grund wird in der Literaturübersicht vermehrt auf die Beurteilung des Vitaminstatus anhand von Versorgungs- und Funktionsparametern eingegangen. Die Auswahl der wasserlöslichen Vitamine wurde durch die Risikoeinschätzungen vorhergehender Ernährungsberichte in Österreich getroffen [ELMADFA et al., 1998, ELMADFA et al., 2003, ELMADFA et al., 2009] und beinhaltet die B-Vitamine (Folat, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>) und Vitamin C. Die Aufnahme der wasserlöslichen Vitamine Niacin, Pantothenäure und Biotin wurde zwar in der *Österreichischen Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* erfasst, jedoch durch das Fehlen biochemischer Daten wurden sie in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt.

### 2.5.1 Vitamin B<sub>1</sub>

Vitamin B<sub>1</sub> besteht aus einem Thiaminmolekül, welches sich aus einem Pyrimidin- und Thiazolanteil durch eine Methylenbrücke zusammensetzt und unterschiedliche Substituenten aufweisen kann. Thiamin ist hauptsächlich in phosphorylierter Form als Thiamindiphosphat (TDP) bzw. Thiaminpyrophosphat (TPP) oder als Proteinkomplex zu finden, wobei Verbindungen wie Thiaminmonophosphat (TMP) und Thiamintriphosphat (TTP) eher selten oder nur in geringen Mengen vorkommen [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Als freies Thiamin in pflanzlichen und hauptsächlich als TPP in tierischen Lebensmitteln ist Vitamin B<sub>1</sub> relativ weitverbreitet. Es wird durch einen Carrier-vermittelten Transport über einen Sättigungsmechanismus oder bei hohen oralen Dosen (über 2 µmol) auch durch passive Diffusion vom menschlichen Körper nach einer Dephosphorylierung

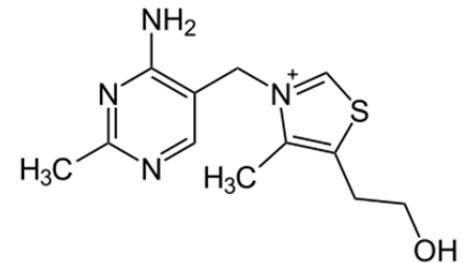


Abb.1: Strukturformel von Thiamin  
[mod. nach ELMADFA und LEITZMANN, 2004]

absorbiert [ARIAEY-NEJAD et al., 1970]. Die für den Menschen wichtigen Aufnahmequellen sind Innereien und Schweinefleisch, aber auch Vollkorngetreide enthält hohe Thiaminkonzentrationen [SCOUCI et al., 2008]. Am häufigsten im menschlichen Körper kommt mit bis zu 80% TPP vor, das u.a. in Leber, Niere, Herz und Skelettmuskulatur zu finden ist, gefolgt von TTP mit 5–10 %. Das Hauptausscheidungsprodukt ist die freie Form des Thiamins. Sie wird über den Harn abgegeben. Thiamin weist eine ausgesprochene Strukturspezifität auf, lediglich geringe strukturelle Veränderungen können zu einer Minderung der Vitaminwirksamkeit bzw. sogar zu antagonischen Wirkungen führen [GIBSON, 2005].

Die wichtigste Form des Thiamin ist das TPP, es ist als essenzieller Cofaktor bei diversen Reaktionen im Intermediärstoffwechsel beteiligt und für die oxidative Decarboxylierung von verzweigtkettigen  $\alpha$ -Ketosäuren mitverantwortlich. Aufgrund seiner Rolle im Energiestoffwechsel erhöht oder erniedrigt sich der individuelle Thiaminbedarf je nach Energieumsatz [SAUBERLICH et al., 1979], der Kohlenhydratanteil in der Nahrung dürfte hauptsächlich dafür verantwortlich sein [ELMADFA et al., 2001]. Ein weiterer wichtiger Cofaktor ist das TTP. Neben seiner neurophysiologischen Rolle hat TTP ungeklärte Aufgaben im Proteinstoffwechsel, im Zellmetabolismus und bei der Signalübertragung [BETTENDORFF und WINS, 2009], jedoch auch weitere Metaboliten wie TMP werden bezüglich ihrer noch ungeklärten physiologischen Funktionen diskutiert [MAKARCHIKOV et al., 2003].

Ein Thiaminmangel äußert sich in dem klassischen Krankheitsbild Beriberi mit verschiedenen Formen (feuchte, trockene, infantile oder Wernicke-Korsakoffsyndrom) und verursacht Symptome wie Polyneuropathien, Skelettmuskelschwund, Ödeme und Herzfunktionsstörungen [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. In industrialisierten Ländern kommt eine geringe Thiaminaufnahme selten vor, die Thiaminabsorption kann jedoch bei chronischem Alkoholmissbrauch oder Medikamenteneinnahme eingeschränkt werden und zu spezifischen Symptomen eines Thiaminmangel führen [SAID, 2011].

Der Thiaminstatus kann durch diverse Biomarker beurteilt werden. Somit können frühzeitige Stoffwechselveränderungen einer unzureichenden Thiaminaufnahme aufgezeigt werden. Da die Thiaminaufnahme mit der über den Harn ausgeschiedenen Thiaminmenge korreliert [TSUJI et al., 2010], gibt die Messung der Thiaminausscheidung Aufschluss über die kurzfristige Versorgungssituation. Sie wird als valider VP zur Statusbestimmung, nicht aber zur Erfassung der Körperreserven, herangezogen [TASEVSKA et al., 2008]. Die Messung von Enzymaktivitäten, wie der Transketolaseaktivität in den Erythrozyten, wird als FP für den Thiaminstatus bestimmt. Sie spiegelt die längerfristige Versorgungssituation des Nährstoffs wider und wird als aussagekräftiger Biomarker angesehen [GIBSON, 2005]. Gesamtthiamin oder TPP-Konzentrationen im Plasma oder Vollblut werden vermehrt als Biomarker durch aktuellere analytische Methoden mittels HPLC eingesetzt [KÄRNER et al., 2009], die Statusbeurteilung durch die noch nicht einheitlich etablierten Referenzwerte ist allerdings schwierig [SAUBERLICH, 1999].

Eine durchschnittliche Thiaminaufnahme von 0,08 mg/MJ erwies sich in kontrollierten Bilanzstudien [SAUBERLICH et al., 1979, WOOD et al., 1980] als Mindestbedarf für Erwachsene, wobei bereits nach 9tägiger Thiaminreduktion von unter 0,05 mg/MJ vereinzelt Symptome eines Mangels im Studienkollektiv festgestellt wurden. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde eine Thiaminaufnahme von 0,12 mg/MJ für die Gewebesättigung und die optimale Aktivität thiaminabhängiger Enzyme festgelegt. Aber auch bei einer geringeren Energiebilanz sollte die Aufnahme von 1,0 mg/d nicht unterschritten werden [NICHOLS und BASU, 1994]. Die aktuell gültigen Referenzwerte [D-A-CH, 2012] stützen sich auf die beiden häufig verwendeten Biomarker zur Statusbeurteilung: die Thiaminausscheidung über den Harn und den Aktivierungstest der Transketolase in den Erythrozyten.

Tab. 1 gibt eine Übersicht über die häufig verwendeten Aufnahmeempfehlungen verschiedener Ernährungsfachgesellschaften und zeigt eine weitaus einheitlichere Auffassung der empfohlenen Thiaminaufnahme. Die Aufnahmeempfehlungen für Kinder liegen mit 1—1,4 mg/d [D-A-CH, 2012] geringfügig über jenen anderer Länder,

für Erwachsene und Senioren wird jedoch mit 1,0–1,3 mg/d eine im Ländervergleich betrachtet annäherungsweise ähnliche Zufuhrmenge empfohlen. Frauen haben durch ihre geringere Energiebilanz [HABER, 2009] einen niedrigeren Thiaminbedarf als Männer, wodurch die geschlechtsspezifischen Empfehlungen entstehen.

**Tab. 1: Empfohlene Vitamin B<sub>1</sub>-Zufuhr (mg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren**

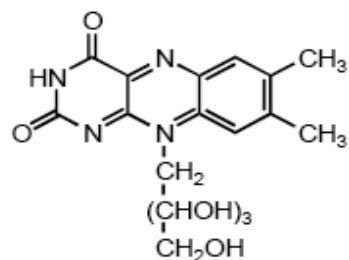
	7–14	19–64	65 Jahre und
	Jahre	Jahre	älter
<b>Deutschland, Österreich und Schweiz [D-A-CH, 2012]</b>	1,0–1,4	w: 1,0; m: 1,1–1,3	1,1
(EZ)			
<b>World Health Organization [WHO/FAO, 2004] (RNI)</b>	0,9–1,2	w: 1,1; m: 1,2	w: 1,1; m: 1,2
<b>Nordic Nutrition Recommendations [NNR, 2004] (RI)</b>	0,9–1,2	w: 1,1; m: 1,4	w: 1,1; m: 1,4
<b>Australien [NHMRC, 1991] (RDI)</b>	0,6–0,9	w: 1,1; m: 1,2	w: 1,1; m: 1,2
<b>USA [NRC, 2006] (RDA)</b>	0,6–0,9	w: 1,1; m: 1,2	w: 1,1 <sup>1</sup> ; m: 1,2 <sup>1</sup>
<b>Europa [SCF, 1993] (PRI)</b>	0,8–1,0	w: 0,9; m: 1,0	w: 0,9; m: 1,0

w...weiblich, m...männlich, EZ...empfohlene Zufuhr, RNI...recommended nutrient intake, RI...recommended intake, RDI...recommended dietary intake, RDA...recommended dietary allowance, PRI...populational reference intake  
<sup>1</sup> ab 70 Jahren

Die Speicherfähigkeit des menschlichen Körpers für Thiamin ist sehr gering (25–30 mg), deshalb ist eine regelmäßige Thiaminzufuhr erforderlich, wobei nachteilige Wirkungen einer zu hohen Aufnahme z.B. durch eine Supplementierung nicht oder nur in Einzelfällen beobachtet wurden. Ein UL wurde für die Thiaminaufnahme nicht definiert [EFSA, 2006].

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

Die chemisch aktive Form des Vitamin B<sub>2</sub> ist das 7,8-Dimethyl-10-(1-D-ribityl)isoalloxazin, es wird als Riboflavin bezeichnet. Riboflavin ist als prosthetische



Gruppe der Coenzyme Flavinadenindinucleotid (FAD)

und Flavinmononucleotid (FMN) Bestandteil von Dehydrogenasen und Oxidasen und spielt eine wichtige Rolle bei Redoxreaktionen im Energietstoffwechsel [GIBSON, 2005]. Vitamin B<sub>2</sub> ist sowohl in pflanzlichen als auch tierischen Lebensmitteln enthalten, mit besonders

**Abb. 2: Strukturformel von Riboflavin [mod. nach ELMADFA und LEITZMANN, 2004]**

hohen Konzentrationen in Milch und Milchprodukten, Fleisch und Fisch [SCOUCI et al., 2008]. Die Absorption aus tierischen Lebensmitteln ist im Vergleich zu den pflanzlichen begünstigt, da diese einen höheren Anteil an freiem Riboflavin enthalten. Die Absorption erfolgt bis zu einer Menge von 25 mg im proximalen Jejunum aktiv nach einer Sättigungskinetik, bei höheren Dosen auch passiv durch Diffusion [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Im menschlichen Blutkreislauf liegt der größte Teil des Vitamin B<sub>2</sub> in Form von FAD (70–80 %) und FMN (5–30 %) und nur zu 0,5–2 % in freier Form als Riboflavin vor. Es wird hauptsächlich an Albumin gebunden oder durch spezifische riboflavinbindende Proteine (RFP) transportiert und nur in geringen Mengen im Körper gespeichert. Eine ausreichende Zufuhr ist daher notwendig, um die riboflavinabhängigen Körperfunktionen aufrecht zu erhalten. Vitamin B<sub>2</sub> in freier Form sowie weiteren Abbauprodukten werden über den Harn ausgeschieden [POWERS, 2003].

Die wichtigsten Funktionen von Riboflavin sind die Beteiligung am oxidativen Stoffwechsel und in der Atmungskette, die Dehydrierung und Desaminierung von D-Aminosäuren, die Entgiftungsfunktion durch das Cytochrom-P450-System und die oxidative Aktivität der Regenerierungsreaktion des oxidierten Glutathions. Mangelzustände kommen in industrialisierten Ländern bei einer ausgewogenen Ernährung aufgrund der ubiquitären Funktion des Vitamin B<sub>2</sub> in den Stoffwechselwegen pflanzlicher und tierischer Lebensmittel nur selten vor [GIBSON, 2005]. Bei einer inadäquaten Ernährungsform kann es in Einzelfällen zu Wachstumsstörungen, entzündlichen Veränderungen der Mundschleimhaut und der Zunge, zur seborrhoischen Dermatitis bis hin zur normozytären Anämie kommen. Stoffwechselwege von Vitamin B<sub>6</sub> und Homocystein werden bei einem Riboflavinmangel beeinträchtigt und können ursächlich für eine Erhöhung des Homocysteinblutspiegels sein [HUSTAD et al., 2000].

Zur Beurteilung der Versorgungssituation wird einerseits die Riboflavinausscheidung über den Harn als Versorgungsparameter [FUKUWATARI und SHIBATA, 2008], aber auch die Aktivierbarkeit der Vitamin B<sub>2</sub>-abhängigen Enzyme als Funktionstest

herangezogen [HOEY et al., 2009]. Riboflavin-, FAD- und FMN-Konzentrationen im Plasma oder in den Erythrozyten können weiters Aufschluss über den Riboflavinstatus geben [CAPO-CHICHI et al., 2000] und kommen durch neuere Analysemethoden mittels HPLC vermehrt zum Einsatz [PETTEYS und FRANK, 2011]. Obwohl der Homocysteinmetabolismus durch einen Vitamin B<sub>2</sub>-Mangel beeinträchtigt wird, ist die Homocysteinkonzentration kein geeigneter Biomarker zur Statusbestimmung, da auch ein Defizit an Fолат oder anderen Nährstoffen den Homocysteinspiegel beeinflussen kann [STANGER et al., 2003].

Erste längerfristige Depletionsstudien an Erwachsenen zeigten ausgehend von einer täglichen Riboflavinzufuhr von 0,55 mg nach einer schrittweisen Erhöhung der Riboflavinaufnahme auf 1,1–1,6 mg/d einen deutlichen Anstieg der Riboflavinausscheidung im 24h-Harn. Diese Zufuhrmengen wurden in den 60er-Jahren als ausreichend angesehen, um die Körperreserven an Riboflavin zu füllen und eine optimale Versorgung zu gewährleisten [HORWITT et al., 1950]. Die aktuellen Zufuhrempfehlungen [D-A-CH, 2012] basieren auf Untersuchungen der EGR-Stimulierung nach FAD-Zugabe als FP. Eine Riboflavinzufuhr unter 0,11 mg/MJ ergab eine ungünstig erhöhte Stimulierung der EGR der meisten Studienteilnehmer, wobei erst bei einer Aufnahme von 0,14 mg/MJ der Stimulierungseffekt im Referenzbereich eines optimalen Versorgungszustandes lag [BAMJI, 1969]. Die Rolle des Riboflavins als Bestandteil der Flavoenzyme im oxidativen Stoffwechsel ist grundlegend für einen auf den Energieumsatz bezogenen Riboflavinbedarf. Erhöht sich der Energieumsatz, muss daher auch eine größere Menge an Riboflavin zugefügt werden, um den individuellen Bedarf zu decken [SOARES et al., 1993]. Die Unterschreitung von 1,2 mg/d sollte jedoch auch bei einer geringen Energieaufnahme vermieden werden [D-A-CH, 2012], diese Grenze wird von anderen Gesellschaften mit 1,1 mg/d für Frauen unterschritten (siehe Tab. 2). Frauen und Senioren haben durch ihren geringeren Energieumsatz [HABER, 2009] einen geringeren Riboflavinbedarf und dementsprechend geringere Zufuhrempfehlungen. Tab. 2 zeigt die empfohlene Zufuhr verschiedener Ernährungsfachgesellschaften im internationalen Vergleich. Die

Aufnahmeempfehlungen liegen für Erwachsene und Senioren zwischen 1,1–1,7 mg/d, bei Kindern wird eine größere Schwankungsbreite zwischen 0,6–1,6 mg/d empfohlen.

**Tab. 2: Empfohlene Vitamin B<sub>2</sub>-Zufuhr (mg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren**

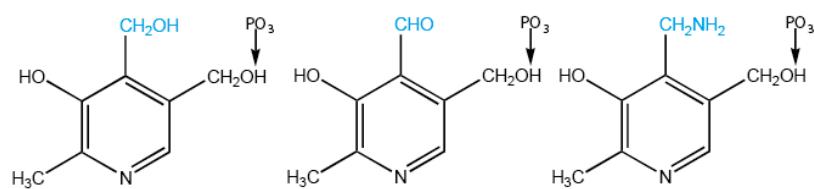
	7–14 Jahre	19–64 Jahre	65 Jahre und älter
<b>Deutschland, Österreich und Schweiz [D-A-CH, 2012] (EZ)</b>	1,1–1,6	w: 1,2; m: 1,3–1,5	1,2
<b>World Health Organization [WHO/FAO, 2004] (RNI)</b>	0,9–1,0	w: 1,1; m: 1,3	w: 1,1; m: 1,3
<b>Nordic Nutrition Recommendations [NNR, 2004] (RI)</b>	1,1–1,4	w: 1,3; m: 1,7	w: 1,3; m: 1,7
<b>Australien [NHMRC, 1991] (RDI)</b>	0,6–0,9	w: 1,1; m: 1,3	w: 1,3 <sup>1</sup> ; m: 1,6 <sup>1</sup>
<b>USA [NRC, 2006] (RDA)</b>	0,6–0,9	w: 1,1; m: 1,3	w: 1,1 <sup>1</sup> ; m: 1,3 <sup>1</sup>
<b>Europa [SCF, 1993] (PRI)</b>	1,2–1,4	w: 1,3; m: 1,6	w: 1,3; m: 1,6

w...weiblich, m...männlich, EZ...empfohlene Zufuhr, RNI...recommended nutrient intake, RI...recommended intake, RDI...recommended dietary intake, RDA...recommended dietary allowance, PRI...populational reference intake  
<sup>1</sup> ab 70 Jahren

Ein UL wurde für die Riboflavaufnahme nicht definiert, da bei einer 250–300fachen Überschreitung der täglichen Zufuhrempfehlung durch eine dreimonatige Supplementation keine nachteiligen Nebenwirkungen beobachtet wurden [SCHOENEN et al., 1994] und die Datenlage aus anderen Studien keine einheitliche Einschätzung einer oberen Zufuhrmenge geben konnte [EFSA, 2006].

### 2.5.3 Vitamin B<sub>6</sub>

Vitamin B<sub>6</sub> ist ein Sammelbegriff für die aktiven Formen der 3-Hydroxy-5-



Hydroxymethyl-2-Methyl-Pyridin-

**Abb. 3: Strukturformel von Pyridoxin, Pyridoxal und Pyridoxamin [mod. nach ELMADFA und LEITZMANN, 2004]**

Derivate. Die Derivate unterscheiden sich durch die Restgruppe am C4, welche für die Coenzymfunktion des Moleküls verantwortlich ist. Pyridoxin ist somit ein Alkohol, Pyridoxal ein Aldehyd und Pyridoxamin enthält eine Aminogruppe am C4-Ende. Alle drei Derivate können ineinander überführt und/oder am C5-Ende phosphoryliert

werden. Die biologisch am wirksamsten Form ist das Pyridoxal-5-Phosphat (PLP), es entsteht aus der Rephosphorylierung an der Darmmukosa aus Pyridoxin [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Vitamin B<sub>6</sub> kommt in fast allen tierischen und pflanzlichen Geweben, wenn auch in geringen Konzentrationen, vor [SCOUCI et al., 2008]. Pyridoxin ist weit verbreitet in pflanzlichen Lebensmitteln, Pyridoxal und Pyridoxamin sowie deren phosphorylierte Formen sind vorwiegend in tierischen Produkten enthalten. Pyridoxin-Glykoside müssen durch Glukosidasen hydrolysiert werden, um mit den anderen Derivaten im Jejunum über einen nicht sättigbaren, passiven Mechanismus absorbiert werden zu können. Durch die Phosphorylierung nach der Absorption entstehen die aktiven Coenzymformen PLP und Pyridoxamin-5-Phosphat (PMP), welche durch die Phosphorylierung im Organismus zurückgehalten werden (metabolic trapping). Mehr als 90 % des im Körper über das Blut transportierte Vitamin B<sub>6</sub> liegt als Pyridoxal oder als PLP an Albumin gebunden vor. Im Plasma kommt Vitamin B<sub>6</sub> etwa zu 70—90 % als PLP vor [LEKLEM, 1990]. Der Körperspeicher beträgt ca. 170 mg, 80—90 % davon befinden sich im Muskel. Das Hauptausscheidungsprodukt ist die 4-Pyridoxinsäure, die vorwiegend über den Urin abgegeben wird und durch die Oxidation von Pyridoxal mit Hilfe von FAD in einem irreversiblen Schritt entsteht [GIBSON, 2005].

PLP und PMP sind durch ihre Coenzymfunktion an über 100 enzymatischen Reaktionen bei Transaminierungen, Decarboxylierungen und Desaminierungen hauptsächlich am Aminosäurestoffwechsel, aber auch am Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel beteiligt [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Vitamin B<sub>6</sub> spielt weiters eine wichtige Rolle im Nervensystem durch die Bildung von Neurotransmittern, wirkt bei der zellulären und humoralen Immunabwehr mit, beeinflusst die Wirkung von Steroidhormonen und hat einen Einfluss auf die Hämoglobinsynthese [BOWLING, 2011]. Im Fall eines Mangels, meist verursacht durch Absorptionsstörungen oder durch einen Protein-Energie-Mangel, kann es zu klinischen Symptomen wie Appetitverlust, GI-Störungen, Dermatitis, Degeneration der peripheren Nerven, Krampfzuständen, Cheilosis und Glossitis sowie zur mikrozytären, hypochromen Anämie kommen [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Derartige Symptome sind allerdings in Bevölkerungen aus

Industrieländern nur sehr selten zu erwarten. Trotzdem kann eine inadäquate Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung vermehrt bei älteren Personengruppen auftreten und mit kardiovaskulären Erkrankungen [FOLSOM et al., 1998, VERHOEF et al., 1996], Beeinträchtigung der kognitiven Funktionen sowie Alzheimer [SELHUB et al., 2000] und verschiedenen Formen von Krebs [SPINNEKER et al., 2007] in Zusammenhang gebracht werden. Personen welche eine vegane Ernährungsform wählen zählen des Weiteren zu den Risikogruppen für eine Unterversorgung [WALDMANN et al., 2006].

Um den Vitamin B<sub>6</sub>-Status beurteilen zu können, gibt es verschiedene biochemische Parameter und Methoden. Zum einen können die Konzentrationen von PLP, Pyridoxal oder Gesamt-Vitamin B<sub>6</sub> im Plasma oder den Erythrozyten als VP gemessen werden [BITSCH, 1993]. Die Messung der PLP-Konzentration im Plasma wird immer öfter zur Statusbeurteilung herangezogen, da sie gut mit dem Gesamt-Vitamin B<sub>6</sub> im Harn und im Plasma korreliert [HANSEN et al., 1997] und große Studienpopulationen durch einfache Analysemethoden effizient erfasst werden können [CDC, 2012]. Die 4-Pyridoxinsäureausscheidung über den Harn gibt Aufschluss über den kurzfristigen Vitamin B<sub>6</sub>-Status, nicht aber über die Körperreserven [LUI et al., 1985]. Funktionstests der Vitamin B<sub>6</sub>-abhängigen Enzyme wie die erythrozytären Transaminase, die Aspartataminotransferase (EAST) oder die Alaninaminotransferase (EALT), werden zur längerfristigen Statusbeurteilung herangezogen und gelten als valide Biomarker für den Vitamin B<sub>6</sub>-Status [SAUBERLICH, 1999]. Indirekte Messungen von Stoffwechselprodukten, die PLP benötigen, wie die Messung der Xanthurenausscheidung nach einer Tryptophanbelastung oder der Cystathioninausscheidung nach einer Methioninbelastung im Harn [BROWN, 1981, LEKLEM, 1990], sind antiquiertere Methoden und werden vermehrt zur Beurteilung des Vitamin B<sub>6</sub>-Gehalts in der Leber und weniger zur gesamten Vitamin B<sub>6</sub>-Statusbeurteilung herangezogen [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

**Tab. 3: Empfohlene Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhr (mg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren**

	7–14	19–64	65 Jahre und
	Jahre	Jahre	älter
<b>Deutschland, Österreich und Schweiz [D-A-CH, 2012] (EZ)</b>	0,7–1,4	w: 1,2; m: 1,5	w: 1,2; m: 1,4
<b>World Health Organization [WHO/FAO, 2004] (RNI)</b>	1,0–1,3	w: 1,3–1,5; m: 1,3–1,7	w: 1,5; m: 1,7
<b>Nordic Nutrition Recommendations [NNR, 2004] (RI)</b>	1,0–1,3	w: 1,2; m: 1,6	w: 1,2; m: 1,6
<b>Australien [NHMRC, 1991] (RDI)</b>	0,6–1,0	w: 1,3–1,5; m: 1,3–1,7	w: 1,5 <sup>1</sup> ; m: 1,7 <sup>1</sup>
<b>USA [NRC, 2006] (RDA)</b>	0,6–1,0	w: 1,3–1,5; m: 1,3–1,7	w: 1,5 <sup>1</sup> ; m: 1,7 <sup>1</sup>
<b>Europa [SCF, 1993] (PRI)</b>	1,1–1,3	w: 1,1; m: 1,5	w: 1,1; m: 1,5

w...weiblich, m...männlich, EZ...empfohlene Zufuhr, RNI...recommended nutrient intake, RI...recommended intake, RDI...recommended dietary intake, RDA...recommended dietary allowance, PRI...populational reference intake

<sup>1</sup> ab 70 Jahren

Die empfohlene Zufuhr an Vitamin B<sub>6</sub> [D-A-CH, 2012] stützt sich auf eine Aufnahmemenge von 1,2–2 mg/d, verzehrt über eine gemischte Kost für gesunde Erwachsene, bei der keine biochemischen Mangelveränderungen aufgezeigt werden konnten [SAUBERLICH, 1964]. Da Vitamin B<sub>6</sub> eine zentrale Rolle im Aminosäurestoffwechsel spielt, ist der Bedarf vom Proteinumsatz abhängig [MILLER et al., 1985]. Für Erwachsene gilt eine Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme von 0,02 mg pro g Proteinzufuhr oder mind. 0,016 mg/g [HANSEN et al., 1997]; bei einer empfohlenen Proteinzufuhr von 8–10 % der Energiezufuhr bzw. 0,8 g Protein pro kg Körpergewicht pro Tag entspricht das zwischen 0,14–0,17 mg Vitamin B<sub>6</sub>/MJ [D-A-CH, 2012]. Nach einer den Empfehlungen entsprechenden Energie- und Proteinaufnahme sollten Erwachsene durchschnittlich 1,2–1,7 mg/d Vitamin B<sub>6</sub> aufnehmen (siehe Tab. 3), Frauen haben durch ihren geringeren Energieumsatz [HABER, 2009] dementsprechend auch einen geringeren Vitamin B<sub>6</sub>-Bedarf.

Ein UL wurde für die Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme nicht definiert, obwohl toxische Symptome sowie periphere Neuropathien bei einer Zufuhr von 50–500 mg/d beobachtet wurden [BÄSSLER, 1989]. Eine Zufuhr von 25 mg/d für Erwachsene und 5–15 mg/d für Kinder wurde von der EFSA als unbedenklich eingestuft [EFSA, 2006].

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

In der allgemeinen Literatur wird Vitamin B<sub>12</sub> als Sammelbegriff für alle vitaminwirksamen Cobalamine beschrieben, chemisch gesehen kann auch nur Cyanocobalamin (mit einem CN-Rest) gemeint werden. Cobalamine sind sehr komplexe Moleküle und bestehen aus einem cobalt-haltigen Corrin-Ring-System mit verschiedenen Resten am Cobaltatom. Der Corrin-Ring besteht aus vier reduzierten substituierten Pyrrolringen, die über vier

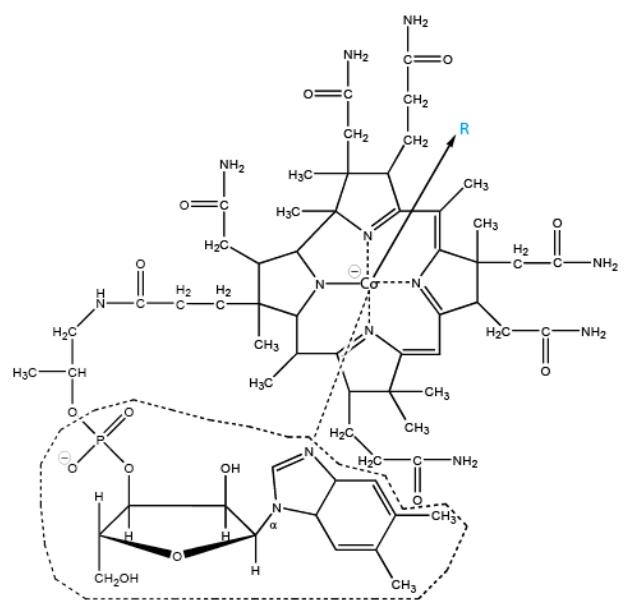


Abb. 4: Strukturformel von Vitamin B<sub>12</sub> [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]

Stickstoffatome an das zentrale Cobaltatom gebunden sind, der fünfte Ligand am Cobaltatom ist ein 5,6-Dimethylbenzimidazolribosid (siehe Abb. 4). Die zwei physiologisch aktiven Coenzymformen des Vitamin B<sub>12</sub> sind Methyl-Cobalamin und 5-Desoxyadenosyl-Cobalamin [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Vitamin B<sub>12</sub> kann weder von Menschen, Tieren noch Pflanzen synthetisiert werden, lediglich Mikroorganismen sind dazu im Stande. Die für den Menschen wichtigen Aufnahmeketten bilden Lebensmittel tierischen Ursprungs, mit besonders hohen Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen in Leber, Niere und Gehirn. Pflanzliche Lebensmittel enthalten kaum Vitamin B<sub>12</sub> [SCOUCI et al., 2008] und besonders bei einer veganen oder streng vegetarischen Ernährungsform kann es trotz der großen Körperspeicher und der effizienten enterohepatischen Reabsorption zu einem Mangel kommen [ELMADFA und SINGER, 2009; HERRMANN et al., 2003]. Tiere nehmen ihren Vitamin B<sub>12</sub>-Gehalt über den Verzehr von Fleisch oder Vitamin B<sub>12</sub>-haltigen Mikroorganismen auf. Obwohl der Mensch enteral Vitamin B<sub>12</sub> bildet, kann dieses nicht absorbiert und genutzt, sondern muss extern über die Nahrung zugefügt werden. Die Absorption von Vitamin B<sub>12</sub> verläuft dosisabhängig: Bei einer Dosis von 0,5 µg werden 75 %, bei einer

Dosis von 1 µg nur noch 50 % über eine Intrinsic-vermittelte Absorption aufgenommen, bei Mengen über 2 µg erfolgt zusätzlich auch eine passive Diffusion [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Das mit der Nahrung aufgenommene Vitamin B<sub>12</sub> muss zuerst durch die Magensäure und intestinale Enzyme aus seiner Proteinbindung freigesetzt werden, bevor es an den spezifischen Intrinsic-Faktor binden kann. Der Transport im Blut erfolgt über drei verschiedene Glykoproteine: Transcobalamin (TC) I, II und III. 80 % des im Serum transportierten Cobalamins (meist Methyl-Cobalamin) ist an TC I und TC III gebunden, 20 % an TC II. Die Hauptspeicherform ist vermutlich das 5-Desoxyadenosylcobalamin, welches zu 50–90 % in der Leber und ca. 30 % in der Muskulatur lokalisiert ist. Die Ausscheidung erfolgt vorwiegend über die Galle. Durch die effiziente Reabsorption im enterohepatischen Kreislauf und die geringe Umsatzrate von ca. 0,1 % pro Tag des gesamten Körperspeichers von 2–5 mg kann eine nicht adäquate Zufuhr und daher ein Mangel erst nach Jahren bemerkbar werden [GIBSON, 2005].

Eine der wichtigsten Funktionen von Vitamin B<sub>12</sub> ist die Remethylierungsreaktion von Homocystein zu Methionin, Methyl-Cobalamin wird als Cofaktor für das katalysierende Enzym der Methioninsynthase benötigt. Methyldonor ist bei dieser Reaktion die 5-Methyltetrahydrofolsäure (5-Methyl-THF), welche zur aktiven Tetrahydrofolsäure (THF) umgewandelt wird. Bei einem Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel wird der Folatmetabolismus eingeschränkt und es treten häufig ähnliche hämatologische Veränderungen wie bei einem Folatmangel auf. Die Übertragung von Formiminoglutaminsäure auf THF wird eingeschränkt und die Formiminoglutamatausscheidung über den Harn erhöht. Ein weiterer Cofaktor, das 5'-Desoxyadenosylcobalamin, ist Teil der beiden Enzyme MethylmalonylCoA-Mutase und Leucinmutase. Sie sind für die Umlagerung von Alkyl-Resten verantwortlich. Beide Enzymsysteme sind bei einem Mangel beeinträchtigt und verhindern den Abbau ungeradzahliger Fettsäuren. Ein Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel beeinträchtigt nahezu alle Zellen des Organismus und somit das Nervensystem (Degeneration bestimmter Rückenmarksbezirke, funiculäre Myelose), das erythropoetische System (megaloblastische Anämie) sowie die Mund- und Rachenschleimhaut [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Ein Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel kommt bei gesunden Erwachsenen eher selten vor, in größeren Studienkollektiven aus den USA (National Health and Nutrition Examination Surveys von 1999 bis 2002) und England (UK survey) wiesen ungefähr 6 % der über 70-Jährigen Plasmakonzentrationen <148 pmol/L auf [ALLEN, 2009]. Die Prävalenz steigt mit fortschreitendem Alter [HIN et al., 2006] und kann sogar bis zu 20 % betragen [ANDRÈS et al., 2004]. Der schlechte Vitamin B<sub>12</sub>-Status mit fortschreitendem Alter ist bis zu 60 % auf die Atropie der Magenschleimhaut und die geringe Säurebildung im Magen, welche für die Bereitstellung des Vitamins aus den Lebensmitteln notwendig ist, zurückzuführen, selten aber auf eine zu geringe Aufnahme [CARMEL, 2000]. In Entwicklungsländern ist hingegen ein Mangel häufig durch eine zu niedrige Aufnahme bedingt und eine sehr viel höhere Prävalenz kann sich schon im Kindesalter und bei jungen Erwachsenen manifestieren [MILMAN, 2011].

Um den Vitamin B<sub>12</sub>-Status frühzeitig erheben und ein Defizit feststellen zu können werden vermehrt die Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma herangezogen [SAUBERLICH, 1999]. Ein Systematic Review von HOEY et al. [2009] zeigte bei geringen und grenzwertigen Plasmakonzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> einen engen Zusammenhang mit der oral zugefügten Menge an Vitamin B<sub>12</sub>. Die Messung der gesamten Blutkonzentration an Vitamin B<sub>12</sub> führte hingegen zu heterogenen Ergebnissen. Da Folat für die Aufnahme von Vitamin B<sub>12</sub> in die Erythrozyten benötigt wird, ist auch die Messung der Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen in den Erythrozyten abhängig vom Folatstatus und sollte nicht alleine als Biomarker für den Vitamin B<sub>12</sub>-Status herangezogen werden [GIBSON, 2005, HARRISON, 1971]. Die Messung des Transportproteins holoTC II zeigt bei einem Mangel verminderte Konzentrationen und wird zur frühzeitigen Statusbeurteilung herangezogen [HERBERT et al., 1990]. Jedoch wird durch die schwierige Handhabung der Methodik diese in der Routineuntersuchung selten angewandt [LINDGREN et al., 1999]. Aktuellere Studienergebnisse dokumentierten, dass der Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegel im Plasma diagnostisch gleichwertige Ergebnisse eines Vitamin B<sub>12</sub>-Status lieferte wie die Messung des holoTC II und daher für Screeningtests ebenso geeignet ist [AL AISARI et

al., 2010]. Ein häufig verwendeter Biomarker ist das Plasmahomocystein. Ein Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel kann ursächlich für eine Erhöhung des Homocysteinspiegels sein [SELHUB et al., 1999], allerdings können auch ein Defizit an Fолат, Vitamin B<sub>6</sub> oder Vitamin B<sub>2</sub> und genetische Prädispositionen zu intrazellulären Konzentrationserhöhungen durch eine Abbauhemmung führen [STANGER et al., 2003]. Die Messung des Plasmahomocysteins ist ein zusätzlicher Biomarker, da er nicht spezifisch für einen Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel ist und nur in Kombination mit anderen Biomarkern betrachtet werden sollte. Eine Differenzialdiagnose zwischen dem Vitamin B<sub>12</sub>- und dem Fолатstatus kann durch die Messung der Methylmalonsäure (MMA) im Harn erfolgen. Durch einen Mangel an Vitamin B<sub>12</sub> und somit dem aktiven Coenzym 5-Desoxyadenosyl-Cobalamin kann Methylmalonat-CoA nicht zu Succinyl-CoA umgebaut werden. Methylmalonat-CoA wird außerdem über das Abbauprodukt der MMA über den Harn in höherer Konzentration ausgeschieden oder kann im Plasma zu einer Konzentrationserhöhung führen und somit gemessen werden. Dieser Biomarker ist spezifisch für Vitamin B<sub>12</sub>, nicht aber für Fолат [BAIK und RUSSELL, 1999]. Ein fortgeschrittener Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel mit dem Leitsymptom der megaloblastischen Anämie kann durch die Messung hämatologischer Parameter sowie die Zählung der Segmentierungen der Neutrophilen bestätigt werden, welche bei einem Mangel erhöht sind. Jedoch auch ein Mangel an Fолат ruft Veränderungen der Erythrozyten und eine Hypersegmentierung der Neutrophilen hervor [GIBSON, 2005]. Der Deoxyuridin-Suppressionstest wird zur Statusbeurteilung immer weniger verwendet, da Knochenmarkskulturen der Probanden benötigt werden und auch andere weniger invasive Methoden valide Ergebnisse liefern [CHANARIN und METZ, 1997]. Weniger um den Vitaminstatus zu beurteilen, aber um die Absorptionsfähigkeit von Cobalamin im menschlichen Körper feststellen zu können, kann durch die Gabe von radioaktivem Vitamin B<sub>12</sub> mittels dem Schillingtest das Vorhandensein von Intrinsic-Faktor überprüft werden [SCHILLING, 1953]. Modifizierte Varianten des ursprünglichen Schillingtests werden zur Messung der Absorptionsrate an Vitamin B<sub>12</sub> herangezogen [JOOSTEN et al., 1993].

Die empfohlene Aufnahme an Vitamin B<sub>12</sub> [D-A-CH, 2012] stützt sich auf die Messung der Blutplasmawerte und bestimmter hämatologischer Parameter, die einen durchschnittlichen Tagesbedarf von 2 µg für gesunde Erwachsene aufzeigten [HERBERT, 1987, NARAYANAN et al., 1991, STEWART et al., 1970]. Durch die eingeschränkte Bioverfügbarkeit aus einer gemischten Kost (Absorption von ca. 50 %) sowie die geringere Absorptionsrate bei älteren Personengruppen wird eine tägliche Zufuhr von 3 µg empfohlen, um den Bedarf zu decken [D-A-CH, 2012]. Die Zufuhrempfehlungen werden häufig durch die mit der Nahrung aufgenommene Vitamin B<sub>12</sub>-Menge überschritten, diese Mehrzufuhr ist jedoch unbedenklich [EFSA, 2006].

**Tab. 4: Empfohlene Vitamin B<sub>12</sub>-Zufuhr (µg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren**

	7–14 Jahre	19–64 Jahre	65 Jahre und älter
<b>Deutschland, Österreich und Schweiz [D-A-CH, 2012] (EZ)</b>	1,8–3,0	3,0	3,0
<b>World Health Organization [WHO/FAO, 2004] (RNI)</b>	1,8–2,4	2,4	2,4
<b>Nordic Nutrition Recommendations [NNR, 2004] (RI)</b>	1,3–2,0	2,0	2,0
<b>Australien [NHMRC, 1991] (RDI)</b>	1,2–1,8	2,4	2,4
<b>USA [NRC, 2006] (RDA)</b>	1,2–1,8	2,4	2,4
<b>Europa [SCF, 1993] (PRI)</b>	1,0–1,3	1,4	1,4

EZ...empfohlene Zufuhr, RNI...recommended nutrient intake, RI...recommended intake, RDI...recommended dietary intake, RDA...recommended dietary allowance, PRI...populational reference intake

Andere Ernährungsfachgesellschaften empfehlen geringere Aufnahmemenge. Die Aufnahme von 2,4 µg/d wird als ausreichend angesehen, um den Bedarf zu decken (siehe Tab. 4). Ein durchschnittlicher Bedarf wird in Europa mit 1,4 µg/d angenommen [NOVAKOVIC et al., 2012], welcher wiederum deutlich unter dem durchschnittlichen Bedarf von 2 µg/d [D-A-CH, 2012] der Länder Deutschland, Österreich und Schweiz liegt. Die Empfehlungen der skandinavischen Länder unterschreiten die Empfehlungen der DGE, ÖGE und SGE [D-A-CH, 2012] mit 2 µg/d [NNR, 2004] sogar um 33 %. Ähnliche Unterschiede der Vitamin B<sub>12</sub>-Empfehlungen werden bei Kindern und Senioren ersichtlich und sind in Tab. 4 angeführt.

Ein UL für die Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahme wurde nicht definiert, da sehr hohe pharmakologische Dosen von bis zu 5 mg/d über einen Zeitraum von mehreren Jahren keine toxischen, karzinogenen oder mutagenen Symptome hervorriefen [D-A-CH, 2012, EFSA, 2006].

## 2.5.5 Folat

Folsäure wird unter dem Sammelbegriff Folat zusammengefasst. Verschiedene oxidierte oder reduzierte Folate sind für die Vitaminwirksamkeit verantwortlich. Folate weisen einen N-haltigen Pteridinring und einen p-Aminobenzoësäurering auf, an dessen Carboxylen mindestens ein Glutamatmolekül über eine Amidbindung gebunden ist (siehe Abb. 5).

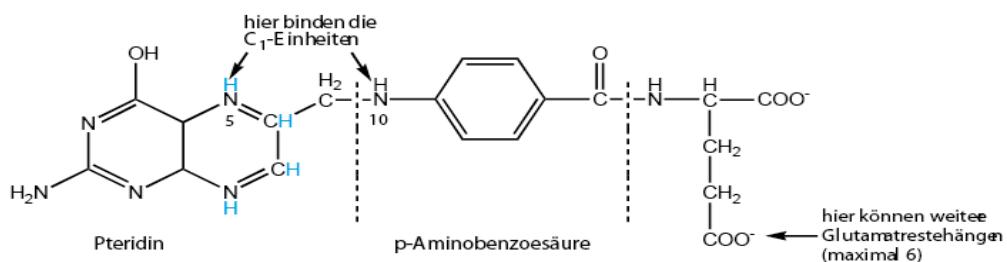


Abb. 5: Strukturformel von Folsäure [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]

Die biologisch aktive Form des Folates ist die 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure (THF), welche durch eine NADPH-abhängige Reduktion des Pteroylglutamats entsteht. Die chemisch korrekte Bezeichnung für Folsäure wäre die Pteroylmonoglutaminsäure (PGA), welche hauptsächlich synthetisch hergestellt wird und im Gegensatz zu dem natürlich in der Nahrung vorkommenden Folate sehr stabil ist und bis zu 100 % vom Körper resorbiert werden kann. Das mit der Nahrung aufgenommene Folate enthält verschiedene Mono- und Polyglutamatformen und wird durch oxidierte oder reduzierte Formen sowie durch verschiedene Substituenten charakterisiert [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Wichtige Aufnahmeketten mit hohen Gehalten an Folate sind Blattgemüse, Weißkohl, Tomaten, Orangen, Leber und Getreideprodukte; die Absorptionsrate beträgt 50–70 % und ist aus tierischen Lebensmitteln besser als aus pflanzlichen [SCOUCL et al.,

2008]. Folat wird im Körper bis zu 50 % in der Leber gespeichert, der Gesamtkörperspeicher reicht von 5–10 mg und enthält hauptsächlich Polyglutamatformen des Folats. Die Transportformen im Körper sind zumeist Folatmonoglutamatformen, welche im enterohepatischen Kreislauf für die Aufrechterhaltung des Plasmafolats verantwortlich sind und über den Harn und die Galle ausgeschieden werden [GIBSON, 2005].

Folat ist im Intermediärstoffwechsel an verschiedenen Prozessen der Zellteilung und Zellneubildung beteiligt. Zahlreiche Stoffwechselvorgänge, an denen Folat als Überträger oder Akzeptor von Hydroxymethylgruppen sowie Formylgruppen fungiert, sind neben dem antianämischen Faktor als wichtigste Funktionen zu nennen. Bei einem Folatmangel kommt es zu niedrigen Folatkonzentrationen im Plasma und in den Erythrozyten, zu Störungen der Zellsysteme mit hoher Zellteilungsrate, wie der Schleimhaut des Darms und des Urogenital-Traktes, und des Blutbildes mit Folgen einer makrozytären, hyperchromen Anämie [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Ganz besondere Aufmerksamkeit sollte der Folatzufuhr vor und während der Schwangerschaft geschenkt werden, da es bei einem Mangel zu Aborten, Neuralrohrdefekten und Entwicklungsstörungen kommen kann [SAUBERLICH, 1999]. Aber auch neurokognitive oder neurologische Funktionsstörungen gerade bei älteren Personen werden mit einem Folatdefizit in Verbindung gebracht [MORETTI et al., 2004]. Ein Folatmangel wird durch die Beeinträchtigung des Methioninmetabolismus und einer damit verbundenen Hyperhomocysteinämie mit kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert [STANGER et al., 2003]. Metaanalysen haben gezeigt, dass eine Folatsupplementierung in der Primärprävention das Risiko eines Insults senken kann und damit einen direkten Einfluss auf die Homocysteinkonzentration im Plasma hat [WANG et al., 2007]. Folat zählt zu den Risikonährstoffen in Europa [NOVAKOVIC et al., 2012], die Prävalenzzahlen einer Folatunterversorgung stützen sich jedoch nur auf die Zufuhrmengen und daher auf Verzehrserhebungen [STANGER et al., 2003], großflächige biochemische Analysen der folatspezifischen Biomarker zur Statusbestimmung fehlen, um diese Aussage zu bestätigen.

Kurzfristige Veränderungen des Folatstatus können beispielsweise durch das Plasma- bzw. Serumfolat aufgezeigt werden, wobei schon nach einer 28tägigen Folatdepletion eine deutliche Reduktion des Plasmaspiegels von ca. 60 % beobachtet werden konnte [SAUBERLICH et al., 1987]. Zur Beurteilung der Gewebereserven und dementsprechend des längerfristigen Status können die erythrozytären Folatkonzentrationen herangezogen werden [CDC, 2012]. Bei Untersuchungen an erwachsenen Frauen konnte ebenfalls nach 28 Tagen der Folatdepletion eine Reduktion des Folatspiegels in den Erythrozyten beobachtet werden, wobei diese lediglich 15 % betrug [SAUBERLICH et al., 1987]. Kurzfristige Verzehrsschwankungen können daher besser durch das Plasmafolat, nicht aber durch die Folatkonzentrationen in den Erythrozyten beschrieben werden. Weiters ist zu beachten, dass Folat in den Erythrozyten lediglich als Speicher, nicht aber als Donator zur Auffüllung der Plasmakonzentration dient. Die Halbwertszeit der Erythrozyten von ca. 60 Tagen ermöglicht erst nach Abbau der Zellen eine Bereitstellung des Folats, also könnte frühestens nach 16 Wochen eine Erniedrigung der Folatkonzentration erreicht bzw. gemessen und damit der Nachweis eines möglichen Mangels erbracht werden [MCNULTY und SCOTT, 2008]. Zusätzliche Biomarker wie die Formiminoglutamat-Ausscheidung (FIGLU) über den Harn nach einem Histidinbelastungstest [ELMADFA und LEITZMANN, 2004], aber auch Folatmetabolite wie para-Aminobenzoylglutamate und para-Acetoamidobenzoylglutamate können als VP im Harn bestimmt werden und Aufschluss über den Folatstatus geben [GREGORY III et al., 2000]. Eine inverse Korrelation konnte bei zahlreichen Untersuchungen zwischen dem Homocystein- und dem Folatspiegel im Plasma beobachtet werden, weshalb auch die Messung der Homocysteinkonzentration als FP für den Folatstatus gilt [FABIAN et al., 2011, JACOB et al., 1998, O'KEEFE et al., 1995, SELHUB et al., 1993]. Da auch andere Regelmechanismen, beispielsweise eine mangelhafte Versorgung an Vitamin B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> oder B<sub>12</sub>, sowie genetische Einflussfaktoren eine Erhöhung der Homocysteinkonzentration im Plasma bewirken [STANGER et al., 2003], ist die Homocysteinkonzentration nicht allein spezifisch für einen Folatmangel und sollte immer in Kombination mit der Folatkonzentration im Plasma oder den Erythrozyten

interpretiert werden. Genetische Unterschiede durch einen C677T Polymorphismus in dem Gen der Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) können bei homozygoten Trägern (ca. 5–15 % der Bevölkerung in Deutschland, Österreich und der Schweiz) zu einem erhöhten Folatbedarf führen und Gründe für eine Hyperhomocystämie sein [CANDITO et al., 1999]. Eine Metaanalyse von 2002 bestätigt, dass homozygote Varianten ein um 20 % höheres Risiko haben Herzkreislauferkrankungen zu entwickeln [WALD et al., 2002]. LEWIS et al. [2005] konnten durch eine aktualisierte Metaanalyse von 80 Studien ein Risikopotential von 14 % durch den genetischen Polymorphismus bestätigen, die Evidenz in Europa ist jedoch gering. Die genetische Komponente konnte in den aktuellen Erhebungen nicht erfasst werden, sollte aber an dieser Stelle als zusätzlicher Einflussfaktor auf den Folatstatus erwähnt werden und die potentiellen gesundheitlichen Auswirkungen einer Folatunterversorgung hervorheben.

Der Begriff der Folatäquivalente (FÄ) wurde eingeführt um die unterschiedliche Bioverfügbarkeit von Folatverbindungen zu berücksichtigen und eine verlässliche Berechnungsgrundlage zu schaffen: 1 µg Folatäquivalent entspricht jeweils 1 µg Nahrungsfolat (Pteroylpolyglutamat) und 0,5 µg synthetischer Folsäure (Pteroylmonoglutamat), wenn verzehrt auf nüchternen Magen [D-A-CH, 2012].

Eine Aufnahme von 400 µg/d FÄ für Erwachsene wurde bis 2012 von der D-A-CH Gesellschaft [2012] empfohlen, diese Empfehlung basiert auf Ergebnissen der Folatkonzentrationen im Plasma und den Erythrozyten, der Folatausscheidung über den Harn und der Homocysteinkonzentration im Plasma [O'KEEFE et al., 1995, SELHUB et al., 1993]. Die Studie von SAUBERLICH et al. [1987] an erwachsenen Frauen lieferte die Grundlage für diese Empfehlungen und zeigte, dass eine Aufnahme von 300 µg/d FÄ ausreichende Plasma- und Erythrozytenwerte erzielte. Zusätzliche Sicherheitszuschläge, Messfehler (VK von 10 %) bei den Analysemethoden sowie die Prävention einer Hyperhomocystämie wurden bei den bis 2012 gültigen Empfehlungen von 400 µg/d berücksichtigt [D-A-CH, 2012]. Die aktuellsten Studienergebnisse [ELMADFA et al., 2012] gaben allerdings Anlass, die

Folataufnahmeempfehlungen zu überarbeiten und werden in dieser Arbeit im Ergebnisteil ausführlich diskutiert (siehe Kapitel 4.2.5)..

Je nach Alter, Geschlecht und zusätzlichen Lebensstilfaktoren unterscheidet sich der tatsächliche individuelle Folatbedarf. In Europa wird ein durchschnittlicher Bedarf von 200 µg/d angenommen [NOVAKOVIC et al., 2012]. Verschiedene Ernährungsfachgesellschaften empfehlen, basierend auf den jeweiligen wissenschaftlichen Erkenntnissen, unterschiedliche Aufnahmemengen, die zwischen 200–400 µg/d liegen. Tab. 5 soll eine kurze Übersicht über häufig verwendete Empfehlungen im internationalen Kontext geben.

**Tab. 5: Empfohlene Folatzufuhr (µg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren**

	7–14	19–64	65 und
	Jahre	Jahre <sup>1</sup>	älter
<b>Deutschland, Österreich und Schweiz [D-A-CH, 2012] (EZ)</b>	300–400	400	400
<b>World Health Organization [WHO/FAO, 2004] (RNI)</b>	300–400	400	400
<b>Nordic Nutrition Recommendations [NNR, 2004] (RI)</b>	130–200	300	300
<b>Australien [NHMRC, 1991] (RDI)</b>	200–300	400	400
<b>USA [NRC, 2006] (RDA)</b>	200–300	400	400
<b>Europa [SCF, 1993] (PRI)</b>	150–180	200	200
<b>neue Empfehlungen [D-A-CH, 2013] (SW)</b>	180–300	300	300

EZ...empfohlene Zufuhr, RNI...recommended nutrient intake, RI...recommended intake, RDI...recommended dietary intake, RDA...recommended dietary allowance, PRI...populational reference intake, SW...Schätzwert

<sup>1</sup>Frauen mit Kinderwunsch und Schwangere haben einen höheren Bedarf

Aufgrund der hohen Prävalenz eines Folatmangels und der damit verbundenen gesundheitlichen Auswirkungen werden in den USA, Kanada und anderen Ländern Grundnahrungsmittel mit Folat angereichert. Eine Folatfortifikation wirkte sich durch eine deutliche Verbesserung des Folatstatus gemessen anhand der Folatkonzentrationen im Plasma und den Erythrozyten aus [PFEIFFER et al., 2007]. Das Hauptargumente gegen eine Folatanreicherung anderer Länder ist die mögliche Maskierung eines Vitamin B<sub>12</sub>-Mangels, welcher durch sehr hohe tägliche Folataufnahmemengen unbemerkt bleiben und somit neurologische Schäden verursachen kann [SELHUB et al., 2008]. Die Diskussion über eine etwaige

Notwendigkeit einer Intervention durch die Anreicherung von Grundnahrungsmitteln in Österreich, um den Folatstatus der Österreicher und Österreicherinnen zu verbessern, wird im Ergebnisteil behandelt.

Ein UL wird von der EFSA nur für synthetisch hergestelltes Folat (PGA) mit 1 mg/d für Erwachsene und 400–800 µg/d für Kinder definiert. Mit der Nahrung zugefügte Folatmengen scheinen keine toxikologischen Auswirkungen auf die Gesundheit des Menschen zu haben [EFSA, 2006].

#### **2.4.5.1 Homocystein**

Homocystein wird in dieser Arbeit als Funktionsparameter für den Folatstatus herangezogen. Obwohl ein Vitaminmangel (der Vitamine B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> und Folat) als Hauptgrund einer Hyperhomocystämie angesehen wird, scheint Folat den größten Einfluss zu haben [STANGER et al., 2003]. Homocystein kommt als Zwischenprodukt im Stoffwechsel der Aminosäure Methionin vor, welche über die Nahrung aufgenommen wird und unter Adenosintriphosphat (ATP)-Verbrauch durch die Methionin-Adenosyltransferase zu S-Adenosylmethionin (SAM) verstoffwechselt wird [MINER et al., 1997]. SAM ist ein wichtiger Methylgruppendonator und an etwa 100 Methylierungsreaktionen im menschlichen Körper beteiligt [CHIANG et al., 1996]. Die Methyltransferase katalysiert die Umwandlung von SAM zu S-Adenosylhomocystein (SAH). SAH wird in weiterer Folge durch eine Hydrolyse in Adenosin und Homocystein umgewandelt.

Der Abbauprozess von Homocystein kann entweder über den Transsulfurierungs- oder Remethylierungsweg erfolgen. Bei dem Transsulfurierungsweg wird eine irreversible Reaktion durch das Enzym Cystation-β-Synthase, welches als Cofaktor PLP enthält, katalysiert. Aus Homocystein und Serin wird Cystathionin gebildet. Cystathionin wird des Weiteren zu Cystein und α-Ketobutyrat umgewandelt, auch diese Reaktion benötigt Vitamin B<sub>6</sub> als Cofaktor. Der Remethylierungsweg benötigt Folat und Vitamin B<sub>12</sub>. Die Methylgruppe von 5-Methyltetrahydrofolat wird durch die Methioninsynthase auf Homocystein übertragen und es entsteht wieder Methionin [STANGER et al., 2003]. Vitamin B<sub>2</sub> ist, durch die beiden Coenzymformen FAD und FMN, an der Bildung der aktiven Form des Vitamin B<sub>6</sub> (PLP) und der Aktivität der

Methylentetrahydrofolatreduktase mitverantwortlich und hat, wenn auch indirekt, einen Einfluss auf den Methioninmetabolismus [HUSTAD et al., 2000].

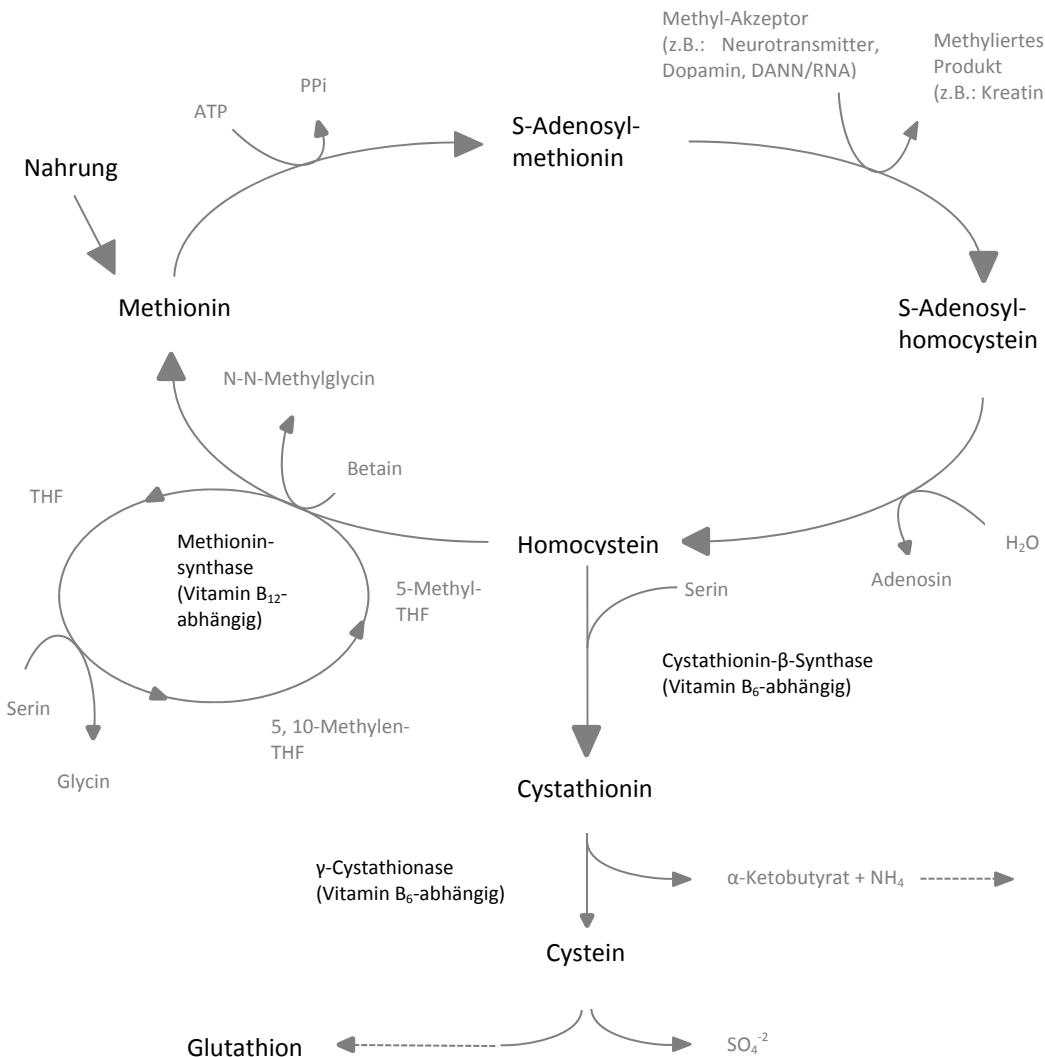


Abb. 6: Stoffwechsel von Homocystein [mod. nach STANGER et al., 2003]

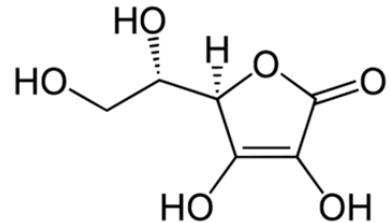
Bei gesunden Menschen ist der Methioninstoffwechsel streng reguliert, jedoch bei einer nicht ausreichenden Versorgung mit bestimmten B-Vitaminen wird der Stoffwechsel behindert und infolgedessen kann es zu einem Anstieg an Homocystein im Blut kommen [STANGER et al., 2003]. Der Einfluss einer Unterversorgung der B-Vitamine auf den Homocysteinmetabolismus und die Rolle bei der Prävention von Neuralrohrdefekten [DE WALS et al., 2007], kardiovaskulären Erkrankungen,

insbesondere Insulte [WALD et al., 2006], Krebs [GIOVANNUCCI, 2002], kognitiven Funktionsstörungen [DURGA et al., 2007, NACHUM-BIALA und TROEN, 2012] sowie Alzheimer [VAN DAM und VAN GOOL, 2009] und Osteoporose [SATO et al., 2005] werden in den letzten Jahren vermehrt diskutiert [MCNULTY und SCOTT, 2008]. Vitamin B<sub>12</sub> scheint nach Folat den größten Einfluss auf die Homocysteinkonzentration im Blut auszuüben [LIAUGAUDAS et al., 2001], aber auch das Alter durch die Abnahme der Nierenfunktion [CDC, 2012], das Geschlecht durch den Östrogeneffekt der Frauen vor der Menopause [STANGER et al., 2003] und die genetischen Einflüsse durch die Punktmutation der MTHFR [LEWIS et al., 2005] wirken sich auf das Plasmahomocystein aus.

Die akzeptable Homocysteinkonzentration im Plasma, bei der kein erhöhtes Risiko für Herzkreislauferkrankungen besteht, wurde über die letzten Jahre stetig nach unten korrigiert und liegt nun zwischen 10–12 µmol/l [STANGER et al., 2003].

## 2.5.6 Vitamin C

Vitamin C ist ein weit verbreitetes Vitamin in pflanzlichen und tierischen Organismen. Der Begriff Vitamin C fasst alle Derivate der L-(+)-Ascorbinsäure mit qualitativ gleichwertiger biologischer Wirkung zusammen, mit Ausnahme des Stereoisomers der D-Ascorbinsäure, da es biologisch inaktiv ist. Chemisch gesehen ist Vitamin C ein 2,3-Endiol-L-Gluconsäurelacton (siehe Abb. 7), das im tierischen Organismus über mehrere Zwischenstufen aus D-Glucose gebildet wird [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Primaten können kein Vitamin C synthetisieren, da das Gen für die Enzymkodierung der L-Gulonolacton-Oxidase mutierte, welches die Oxidation von L-Gulonolacton zum biologisch aktiven Vitamin C katalysiert [NISHIKIMI und YAGI, 1991]. Aus diesem Grund ist für den Menschen die Aufnahme von Vitamin C-Lieferanten wie z. B. Kartoffeln, frischem Obst und Gemüse [SCOUCI et al., 2008] essenziell. Die Absorption von Vitamin C ist dosisabhängig [MELETHIL et al., 1986] und beginnt bereits durch die Mundschleimhaut. Die Hauptresorption findet allerdings im Ileum



**Abb. 7: Strukturformel von L-(+)-Ascorbinsäure [mod. nach ELMADFA und LEITZMANN, 2004]**

über einen natriumabhängigen Transport [STEVENSON, 1974] oder bei höheren Dosen auch durch passive Diffusion [HORNIG et al., 1973] statt. Der gesamte Körperpool wird auf durchschnittliche 1,5 g und maximal 5 g geschätzt, mit besonders hohen Konzentrationen in Nebenniere, Hypophyse und Retina, aber auch in Skelett, Lymphknoten, Leukozyten, Milz und Gehirn. Im Plasma liegt Vitamin C hauptsächlich in freier Form und nur zu geringen Mengen an Proteine gebunden vor [GIBSON, 2005]. Vitamin C wird in der Leber und Niere über das Intermediärprodukt der Dehydroascorbinsäure zur 2,3-Diketogulonsäure abgebaut und mit weiteren Metaboliten über den Harn ausgeschieden [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Vitamin C spielt eine wichtige Rolle im Intermediärstoffwechsel. Die Semidehydroascorbinsäure bildet als reaktionsfähiges Zwischenprodukt zusammen mit der Ascorbinsäure und der Dehydroascorbinsäure ein Redoxsystem, welches eine stark antioxidative Wirkung hat. Vitamin C ist an Hydroxylierungsreaktionen und damit an der Kollagen- und Steroidbildung und dem Abbau von Cholesterin beteiligt. Vitamin C wird ferner als Cofaktor oder Cosubstrat für die Biosynthese von Carnitin und Neurotransmittern benötigt und ist im Eisenstoffwechsel, bei Entgiftungsreaktionen und bei der Entfaltung der biologischen Aktivität von neuroendokrinen Hormonen beteiligt [GIBSON, 2005]. Obwohl Vitamin C eine Vielzahl von Funktionen im Intermediärstoffwechsel ausübt, ist ein Mangel mit dem Leitsymptom Skorbut bei Erwachsenen oder die Moeller-Barlow'sche Krankheit bei Säuglingen nur noch sehr selten zu finden [SCF, 1993]. In industrialisierten Ländern treten wenn nur vorklinische Anzeichen eines Vitamin C-Mangels wie Müdigkeit, Leistungsschwäche, Infektanfälligkeit und schlechte Wundheilung auf [LEVINE et al., 1996, MONGET et al., 1996].

Die Erfassung des Vitamin C-Status beruht häufig auf der Messung der Vitamin C-Konzentration im Plasma oder in den Leukozyten. Die Analyse der Plasmawerte steht mit der über die Nahrung zugefügten Menge an Vitamin C eng in Zusammenhang und spiegelt die kurz- bis mittelfristige Versorgungssituation wider [GIBSON, 2005]. Die Vitamin C-Konzentration in den Leukozyten reflektiert hingegen die Körperreserven

[OMAYE et al., 1987]. Die Interpretation der Ergebnisse der Leukozytenwerte ist oft schwierig, da die Leukozyten ein Überbegriff der Lymphozyten, Monozyten oder Granulozyten sind und diese wiederum unterschiedliche Konzentrationen aufweisen können [JACOB, 1990]. Die Messung der Vitamin C-Konzentration in den Erythrozyten oder in Vollblutproben wird in der Diagnostik auf Grund des hohen Oxidationspotenzials von Vitamin C durch Hämoglobin und der heterogenen Ergebnisse durch einen großen Variationskoeffizienten der Methodik eher selten angewandt [JACOB et al., 1987].

Die Aufnahmeempfehlungen für Vitamin C stützen sich nicht auf die Abwendung von klinischen Symptomen eines Mangels, sondern richten sich nach einer Aufnahmemenge, welche die Stärkung des Immunsystems optimiert und die Prävention von degenerativen Erkrankungen wie Arteriosklerose, Krebs und Katarakte fördert [D-A-CH, 2012]. Die Basis für diese Empfehlung lieferten die epidemiologischen Untersuchungen von CARR und FREI [1999]. Eine optimale Plasmakonzentration von  $>50 \mu\text{mol/l}$  zur Minimierung des Risikos für chronische Erkrankungen [BIESALSKI, 1995] bei nicht rauchenden Erwachsenen wurde durch die Aufnahme von 90–100 mg/d erreicht. Im Rahmen einer Querschnittsstudie in Deutschland konnte bei einer Vitamin C-Aufnahme von 79–85 mg/d eine Konzentration von 50–75  $\mu\text{mol/l}$  im Plasma erreicht und ein durchschnittlicher Bedarf von 82 mg/d abgeleitet werden [HESEKER et al., 1992]. Da die Bioverfügbarkeit von Vitamin C aus einer gemischten Kost mindestens 80 % beträgt [LEVINE et al., 1999] und ein Variationskoeffizient von 10 % für den Mehrbedarf festgelegt wurde, ergaben sich ein Faktor von 1,2 für die Multiplikation des durchschnittlichen Bedarfs und eine resultierende empfohlene Zufuhr von 100 mg/d für gesunde Erwachsene [D-A-CH, 2012]. Individuelle Einflussfaktoren sollten jedoch bei der Beurteilung des Nährstoffbedarfs berücksichtigt werden. Raucher haben im Vergleich zu Nichtrauchern deutlich niedrigere Plasmaspiegel, einen um 40 % höheren Turnover zusammen mit einer um 10 % verringerten Absorption und einen daraus resultierenden erhöhten individuellen

Bedarf an Vitamin C (empfohlene 150 mg/d [D-A-CH, 2012]) [ASAMI et al., 1997, WEBER et al., 1996].

Die Zufuhrempfehlungen der Länder Deutschland, Österreich und Schweiz [D-A-CH, 2012] überschreiten deutlich die Empfehlungen anderer Ernährungsorganisationen (siehe Tab. 6). Dies liegt an der jeweiligen Zielsetzung der Prävention von entweder der Abwendung von subklinischen Symptomen eines Mangels oder andererseits der Abwendung von chronischen Erkrankungen, die in Zusammenhang mit einer Vitamin C-Unterversorgung stehen. Letzteres benötigt größere Vitamin C-Mengen und die Empfehlungen fallen dementsprechend höher aus.

**Tab. 6: Empfohlene Vitamin C-Zufuhr (mg/d) für Kinder, Erwachsene und Senioren**

	7–14	19–64	65 Jahre und
	Jahre	Jahre	älter
<b>Deutschland, Österreich und Schweiz [D-A-CH, 2012] (EZ)</b>	80–100	100	100
<b>World Health Organization [WHO/FAO, 2004] (RNI)</b>	35–40	45	45
<b>Nordic Nutrition Recommendations [NNR, 2004] (RI)</b>	40–50	75	75
<b>Australien [NHMRC, 1991] (RDI)</b>	35–40	45	45
<b>USA [NRC, 2006] (RDA)</b>	25–45	w: 75, m: 90	w: 75, m: 90
<b>Europa [SCF, 1993] (PRI)</b>	30–35	45	45

w...weiblich, m...männlich, EZ...empfohlene Zufuhr, RNI...recommended nutrient intake, RI...recommended intake, RDI...recommended dietary intake, RDA...recommended dietary allowance, PRI...populational reference intake

Eine gesundheitlich tolerierbare Obergrenze der Vitamin C-Aufnahme kann bei der derzeitigen wissenschaftlichen Datenlage nicht angegeben werden [D-A-CH, 2012], obwohl 1 % der retinierten Ascorbinsäure zu Oxalat verstoffwechselt wird und bei nierengeschädigten Patienten das Risiko für eine Harnsteinbildung steigt [GERSTER, 1997]. Im Gegenzug dazu haben gesunde Erwachsene durch ihren sättigbaren Absorptionsmechanismus, ihre sättigbare Reabsorption über die Niere und den sättigbaren Mechanismus der Oxalatbildung kein höheres Risiko für eine Harnsteinbildung [JOHNSTON, 1999]. Gastrointestinale Nebenwirkungen konnten erst ab einer Menge von 3000–4000 mg/d beobachtet werden, nicht aber bei einer vorsichtshalber für gesunde Erwachsene geschätzten tolerierbaren Menge von

1000 mg/d. Langzeitstudien fehlen, um die Risiken einer hohen Vitamin C-Zufuhr abschätzen zu können und ein UL zu definieren [EFSA, 2006].

## **2.6 ERFASSUNG UND BEURTEILUNG DES STATUS WASSERLÖSLICHER VITAMINE**

Die Erfassung des Status der wasserlöslichen Vitamine durch spezielle Biomarker wurde anhand von exemplarischen Studien an einzelnen Personengruppen oder von ausgewählten Nährstoffen durchgeführt. Eine flächendeckende Erfassung der Versorgung mit wasserlöslichen Vitaminen innerhalb der österreichischen Bevölkerung existierte vor den aktuellen Erhebungen noch nicht.

Eine erste Dokumentation der Ernährungssituation wurde im *1. Wiener Ernährungsbericht* in einem WHO-Projekt der Stadt Wien 1994 vom Institut für Ernährungswissenschaften durchgeführt. Die Erhebungsinstrumente beschränkten sich jedoch auf die Aufnahmedaten ausgewählter Nährstoffe bestimmter Personengruppen [ELMADFA et al., 1994]. Eine flächendeckende Berichterstattung der Versorgungssituation in Österreich wurde zusammenfassend in dem Projekt *Österreichischer Ernährungsbericht 1998* veröffentlicht und beinhaltete zusätzlich zu den Verzehrsdaten biochemische Befunde der Kinder und Senioren [ELMADFA et al., 1998]. In weiterer Folge wurde das Monitoring in Österreich auf die Erhebung der Nährstoffaufnahme, nicht aber der biochemischen Parameter, der Kinder, Erwachsenen und Senioren beschränkt und in den Projekten zum *Österreichischen Ernährungsbericht 2003* [ELMADFA et al., 2003] und zum *Österreichischen Ernährungsbericht 2008* [ELMADFA et al., 2009] erhoben. Eine umfassende Berichterstattung der biochemischen Parameter, anhand von Versorgungs- und Funktionsparameter (VP und FP) der wasserlöslichen Vitamine bei Kindern, Erwachsenen und Senioren, wurde erstmals im Projekt *Österreichischer Ernährungsbericht 2012* in der Ernährungsstudie *Österreichische Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* [ELMADFA et al., 2012] ermittelt. Diese Studie liefert die Daten für die vorliegende Arbeit. Ein Vergleich mit den Ergebnissen aus früheren Studien, u. a. dem Projekt *Österreichischer Ernährungsbericht 1998*, ist nur bedingt

möglich, da die verwendeten Biomarker sich oftmals nur auf einen VP oder einen FP stützten, die untersuchten Personengruppen variierten oder eine differente analytische Methode angewandt wurde. Aus diesem Grund werden Vergleichsstudien aus anderen Ländern für die Interpretation der Ergebnisse herangezogen.

Die *Verbundstudie Ernährungserhebung und Risikofaktoren-Analytik* (VERA-Studie) in Deutschland wurde in den Jahren 1986 und 1987 als Unterstudie der *Nationalen Verzehrsstudie* (NVS) durchgeführt und beinhaltete zusätzlich zu den Verzehrsdaten klinisch-chemische Parameter der Studienteilnehmer. Im Rahmen der VERA-Studie wurden 2 006 Erwachsene untersucht und Messwerte des Status der essenziellen Nährstoffe (u.a. der wasserlöslichen Vitamine) biochemisch ermittelt [HESEKER et al., 1992]. Aufgrund der mangelnden Vergleichspopulationen aus Studien an Erwachsenen in Österreich, vor allem für Vitamin B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub>, wurden die Ergebnisse der VERA-Studie mit der in dieser Arbeit erhobenen Daten verglichen. Diese Tatsache unterstreicht das Fehlen von großflächigen Erhebungen des Nährstoffstatus und die Wichtigkeit des ständigen Monitorings einer Bevölkerung, um die aktuelle Versorgungssituation einschätzen zu können.

Eine kontinuierliche biochemische Erfassung des Status der wasserlöslichen Vitamine wurde in den europäischen Ländern noch nicht durchgeführt. Auch der Europäische Ernährungs- und Gesundheitsbericht (*European Nutrition and Health Report 2009*) stützt sich hauptsächlich auf Aufnahmedaten [ELMADFA et al., 2009]. Das EURECCA-Netzwerk versuchte vergleichbare Statusdaten aus Einzelstudien zu liefern, welche sich aber vermehrten auf Vitamin B<sub>12</sub> und Folat beziehen und einen größeren Fokus auf die Harmonisierung der Aufnahmedaten, nicht aber die biochemischen Parameter der wasserlöslichen Vitamine legten [NOVAKOVIC et al., 2012].

In den USA wird eine jährliche Datenerhebung der Kinder, Erwachsenen und Senioren im Rahmen der *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) anhand von mehreren Einzelstudien zusammengefasst und vom *Centre for Disease Control and*

*Prevention* (CDC) durchgeführt. Die aktuellsten veröffentlichten Daten der biochemischen Beurteilung des Vitaminstatus wurden in den Jahren 2003–2006 erhoben. Die Statusbeurteilung zeigte aussagekräftige Ergebnisse mit einer Stichprobengröße von mehr als 16 300 Studienteilnehmern, allerdings beschränkte sich das Monitoring der wasserlöslichen Vitamine auf Vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C und Folat; Vitamine B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> wurden nicht erfasst [CDC, 2012].

Die Ernährungsstudie *Österreichische Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* versuchte erstmals eine flächendeckende Erfassung des Ernährungsstatus durch biochemische Methoden in Österreich zu liefern. Die Biomarker zur Statusbeurteilung wurden durch VP und FP derart bestimmt, dass valide Aussagen über die kurz- und längerfristige Ernährungssituation verschiedener Bevölkerungsgruppen getroffen werden konnten [ELMADFA et al., 2012].

### **2.6.1 Referenzwerte der Biomarker zur Statusbeurteilung**

Die Referenzwerte bzw. Cut-Offs zur Statusbestimmung der wasserlöslichen Vitamine wurden in Anlehnung an die häufig in der Literatur angewandten gewählt, um eine bestmögliche Vergleichbarkeit zu schaffen, oder an die analytische Methodik angepasst. Sie sind in Tab. 7 dargestellt.

Die Beurteilung der Biomarker kann meist durch eine Differenzierung in eine optimale, grenzwertige oder deutlich erniedrigte Versorgung des jeweiligen Nährstoffes getroffen werden. Eine optimale Versorgungssituation zeigt auf zell- bzw. molekularbiologischer Ebene keine Stoffwechselveränderungen auf, die mit einem erhöhten Risiko eines Defizits des jeweiligen Nährstoffes einhergehen. Bei grenzwertigen Befunden können zwar Stoffwechselvorgänge aufgezeigt werden, mangelspezifische Symptome sind allerdings nicht zu erwarten. Eine deutlich erniedrigte Versorgungssituation geht meist mit einem hohen Risiko eines Nährstoffmangels einher, mangelspezifische Symptome sind nicht auszuschließen [SAUBERLICH, 1999].

Häufig ist es schwierig, für bestimmte Personengruppen, wie z. B. Kinder, etablierte Referenzwerte zu finden, weshalb manchmal nur ein Vergleich mit den Ergebnissen aus anderen Studien möglich ist oder die für Erwachsenen etablierten Cut-Offs herangezogen werden müssen [GIBSON, 2005].

Oftmals gibt es mehrere Referenzwerte zur Statusbeurteilung, diese werden im Ergebnisteil und der Diskussion weiter erläutert. Die in der vorliegenden Arbeit für die Interpretation des Status verwendeten Referenzwerte sind in der Tab. 7 hervorgehoben.

**Tab. 7: Referenzwerte der Biomarker zur Statusbeurteilung und zugrundeliegende Literaturangaben**

	Status ist			Literatur
	normal	grenzwertig	deutlich erniedrigt	
	Vitamin B <sub>1</sub>			
Thiaminausscheidung über den Harn (nmol/mmol Kreatinin)	>22 >60	9–22 20–60	<9 <20	[SAUBERLICH, 1999] für Kinder [SAUBERLICH, 1999]
Aktivierungskoeffizient der erythrozytären Transketolase ( $\alpha$ -ETK)	<1,25 <1,15 <1,20	k.a. 1,15–1,25	$\geq$ 1,25 $\geq$ 1,20	[MAJCHRZAK et al., 2006] [SAUBERLICH, 1999] [HESEKER et al., 1992]
<b>Vitamin B<sub>2</sub></b>				
Riboflavinausscheidung über den Harn (nmol/mmol Kreatinin)	>24	8–24	<8	[SAUBERLICH, 1999]
Aktivierungskoeffizient der erythrozytären Glutathionreduktase ( $\alpha$ -EGR)	<1,4 <1,2 <1,5 <1,3	k.a. 1,2–1,4 k.a.	$\geq$ 1,4 $\geq$ 1,4 $\geq$ 1,5 $\geq$ 1,3	[MAJCHRZAK et al., 2006] [SAUBERLICH, 1999] [HESEKER et al., 1992] [BOISVERT et al., 1993]
<b>Vitamin B<sub>6</sub></b>				
Pyridoxal-5-Phosphat im Plasma (nmol/l)	>30	20–30	<20	[SAUBERLICH, 1999]
Aktivierungskoeffizient der erythrozytären Aspartataminotransferase ( $\alpha$ -EAST)	<1,85 <2		$\geq$ 1,85 $\geq$ 2	[MAJCHRZAK et al., 2006] für Kinder [ELMADFA I et al., 1998]
<b>Vitamin B<sub>12</sub></b>				
Vitamin B <sub>12</sub> im Plasma (pmol/l)	>147 >148 >150 >136	110–147	<110 $\leq$ 148 $\leq$ 150 $\leq$ 136	[SAUBERLICH, 1999] [CDC, 2012] [SELHUB et al., 2008] [HESEKER et al., 1992]
Methylmalonsäure im Harn (mmol/mol Kreatinin)	<3,7		$\geq$ 3,7	[NEUMANN, 2012]
<b>Folat</b>				
Folatkonzentration im Plasma (nmol/l)	>13,4 >10 >6 >4,5	6,8–13,4	<6,8 $\leq$ 10 $\leq$ 6 $\leq$ 4,5	[SAUBERLICH, 1999] [SELHUB et al., 2008] [HESEKER et al., 1992] [CDC, 2012]
Homocysteinkonzentration im Plasma ( $\mu$ mol/l)	<12 <15  <13 <10		$\geq$ 12 $\geq$ 15  $\geq$ 13 $\geq$ 10	[STANGER et al., 2003] [NNR, 2004, RAUH et al., 2001] [CDC, 2012] für Kinder [PAPANDREOU et al., 2006]
<b>Vitamin C</b>				
Vitamin C-Konzentration im Plasma ( $\mu$ mol/l)	>23	11–23	<11	[SAUBERLICH, 1999]

## 2.7 AUSGEWÄHLTE EINFLUSSFAKTOREN DES LEBENSTILS

Durch die komplexe Interaktion von Ernährung, Umwelt, Lebensstil und Genetik ist es oft schwierig, kausale Zusammenhänge zwischen dem Vitaminstatus und chronischen Erkrankungen aufzuzeigen oder alle möglichen Einflussfaktoren zu identifizieren [GIBSON, 2005]. Bestimmte Einflussfaktoren des Lebensstils auf den wasserlöslichen Vitaminstatus konnten in der Ernährungsstudie *Österreichische Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* erfasst [ELMADFA et al., 2012] und in der Literatur beschrieben werden.

### 2.7.1 Supplementierung

Obwohl eine chronische Unterversorgung der B-Vitamine und mit Vitamin C chronische Erkrankungen auslösen können, ist nicht davon auszugehen, dass chronische Erkrankungen durch eine Supplementierung therapierbar sind. Des Weiteren kann nicht bestätigt werden, dass extrem hohe Dosen der Vitamine, weit über den Empfehlungen [D-A-CH, 2012], das Risiko für chronische Erkrankungen vermindern [MOSER, 2012].

Eine Supplementierung der B-Vitamine zeigte beispielsweise keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die Entwicklung von Dementia [AISEN et al., 2008, FORD und ALMEIDA, 2012, MCNEILL et al., 2007]. Obwohl eine Supplementierung der B-Vitamine die Homocysteinwerte im Plasma, welche in Zusammenhang mit Herzkreislauferkrankungen stehen [WALD et al., 2006], senken konnte [CLARKE, 2005], scheint die Umstellung auf eine vollwertige Ernährungsform einen größeren präventiven Einfluss auf die Entstehung von Insulten auszuüben als die Einnahme von Nährstoffsupplemente [HANKEY, 2012]. Ob der homocysteinsenkende Effekt einer Vitaminsupplementierung das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen minimiert, wird noch diskutiert [LONN et al., 2006, WANG et al., 2007], die Auswirkungen einer Supplementierung der wasserlöslichen Vitamine in Bezug auf die Gesundheit und damit chronische Erkrankungen können erst teilweise erfasst werden, Langzeitstudien fehlen, um kausale Zusammenhänge zu bestätigen.

Trotzdem konnte eine Verbesserung des Status der wasserlöslichen Vitamine durch die Einnahme von Nährstoffpräparaten durch höhere Nährstoffkonzentrationen und verbesserte physiologische Funktionen im Körper anhand von zahlreichen Studien bestätigt werden [FABIAN et al., 2012, HESEKER et al., 1992, ITOKAWA et al., 1992, WOLTERS et al., 2005].

## 2.7.2 Tabakkonsum

Der Tabakkonsum gehört zu den führenden globalen Ursachen für vermeidbare Krankheiten und ist für ca. 6 Millionen Todesfälle pro Jahr weltweit verantwortlich [WHO, 2011]. Zusätzlich zu den gesundheitlichen Auswirkungen eines hohen Tabakkonsums kann auch der Status der B-Vitamine und von Vitamin C bei Rauchern vermindert sein [PRESTON, 1991]. Aufgrund des vom Tabakkonsum verursachten oxidativen Stress in den Geweben wird Vitamin C als Antioxidans vermehrt verbraucht [CROSS et al., 1999], sodass die Vitamin C-Plasmawerte bei Rauchern nachweislich geringer ausfallen als bei Nicht-Rauchern [ASAMI et al., 1997, HESEKER et al., 1992, WEBER et al., 1996, WOODSIDE et al., 2012]. Ebenso konnten niedrigere Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma und Folatwerte in den Erythrozyten bei Rauchern beobachtet werden [GARIBALLA und FORSTER, 2009]. Untersuchungen in Deutschland bestätigten ebenfalls negative Auswirkungen des Tabakkonsums auf die Versorgung der Vitamine B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> und die Folatversorgung mit geringen Konzentrationen in Harn, Plasma oder Erythrozyten und ungünstigem erhöhten Aktivitätstest der Enzyme [HESEKER et al., 1992].

Der negative Einfluss des Tabakkonsums auf den Status der wasserlöslichen Vitamine konnte anhand der Vitamin C-Plasmawerte bestätigt werden und gilt als ausreichend abgesichert [WOODSIDE et al., 2012]. Raucher haben somit einen um 50 mg/d höheren individuellen Vitamin C-Bedarf (empfohlene 150 mg/d [D-A-CH, 2012]) als Nicht-Raucher. Einzelne Studien [GARIBALLA und FORSTER, 2009; HESEKER et al., 1992] bestätigen zwar den Einfluss des Tabakkonsums auf den Status der B-Vitamine, allgemeine Aussagen müssen allerdings noch bestätigt werden.

## 2.7.3 Medikamenteneinnahme

Die Einnahme von Medikamenten kann zu einer Verschlechterung des Nährstoffstatus durch Appetitverlust, GI-Störungen und andere Beeinträchtigungen der Körperfunktionen führen [JYRKÄ et al., 2012] oder aber eine Medikamenten-Nährstoff-Interaktion hervorrufen, die die Wirkungsweise und Absorption der Nährstoffe, aber auch der Medikamente beeinträchtigt [GENSER, 2008].

Das betrifft vor allem ältere Personengruppen, da die Anzahl der einzunehmenden Medikamente, aufgrund der hohen Prävalenz chronischer Erkrankungen mit fortschreitendem Alter, steigt [HEUBERGER und CAUDELL, 2011].

Der Einfluss durch die Einnahme von Medikamenten auf den Status der wasserlöslichen Vitamine führte noch zu keinen eindeutigen Ergebnissen [PAKNAHAD et al., 2012]. Obwohl die Nährstoffaufnahme bei steigender Anzahl der eingenommenen Medikamente sank [HEUBERGER und CAUDELL, 2011] fehlen biochemische Daten, um dies zu bestätigen. Einige Krankheiten fördern Unterernährung; die unabhängige Rolle der Medikamenteneinnahme auf den Ernährungszustand ist somit schwierig zu bestimmen [JYRKÄ et al., 2012].

### 2.7.3.1 Orale Kontrazeptiva

Die Auswirkung der Einnahme von oralen Kontrazeptiva auf den Status der wasserlöslichen Vitamine konnte in zahlreichen Studien [BRATTSTROM et al., 1992, HESEKER et al., 1992, LUSSANA et al., 2004, SÜTTERLIN et al., 2003] durch eine Beeinträchtigung des Vitamin B<sub>12</sub>-Status, beurteilt anhand der Plasmawerte, beschrieben werden. Die geringen Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen scheinen an der Veränderung der Transportproteine TC I und TC III zu liegen, nicht aber an tatsächlich niedrigen Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Körper [SHOJANIA und WYLIE, 1979]. Der Einfluss von oralen Kontrazeptiva auf den Vitamin B<sub>6</sub>-Status führte zu unschlüssigen Ergebnissen [HAMFELT et al., 1984, LUSSANA et al., 2004, STEEGERS-THEUNISSEN et al., 1992]. Auch der Folatstatus, bewertet durch die Folatkonzentrationen im Plasma [GREEN et al., 1998] und das Plasmahomocystein [CAUCI et al., 2008], scheint kaum von der Einnahme oraler Kontrazeptiva verändert zu sein.

Der Status der Vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> und von Vitamin C wurde durch die Einnahme von oralen Kontrazeptiva nicht beeinträchtigt [JOSHI et al., 1975, THANE et al., 2002, WEBB, 1980], aktuelle Studien fehlen, um diese Aussage zu bestätigen.

#### **2.7.4 Alkoholkonsum**

Quantitativ große Mengen alkoholischer Getränke können zu Störungen der intestinalen Absorption, aber auch zu Schädigungen der Mukosa im GI-Trakt führen. Alkoholkonzentrationen ab 2 % können die Absorption von Nährstoffen, hauptsächlich solchen, die durch einen aktiven Transportmechanismus absorbiert werden, beeinflussen und somit vermindern [BODE und BODE, 2000]. Exzessive Alkoholeinnahmen werden häufig mit einem erhöhten Risiko einer Nährstoffunversorgung assoziiert, vor allem sind die Vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> und Folat betroffen [VAN DEN BERG et al., 2002].

Die Thiaminabsorption kann bei chronischem Alkoholmissbrauch stark eingeschränkt werden [LEMOS et al., 2005] und zu spezifischen Symptomen eines Thiaminmangels führen [SAID, 2011]. Ein hoher Alkoholkonsum kann nicht nur die Absorption, sondern auch den Thiaminstoffwechsel beeinflussen [IBER et al., 1982]. Untersuchungen in Deutschland im Rahmen der VERA-Studie zeigten einen ungünstigen Thiaminstatus, durch einen hohen Alkoholkonsum (30–90 g Alkohol/d) verursacht, bei 28 % der Männer und 31 % der Frauen auf [HESEKER et al., 1992].

Tierexperimente an Ratten haben erst bei einer geringen Nährstoffaufnahme eine Verschlechterung der Blutwerte von Vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> und B<sub>6</sub> durch die Gabe von Ethanol festgestellt. Bei einer adäquaten Nährstoffaufnahme konnten allerdings keine Statusverschlechterungen beobachtet werden [MIYAZAKI et al., 2012]. Diese Ergebnisse wurden bei Untersuchungen an starken Alkoholikern bestätigt, bei einer ausreichenden Aufnahme an Folat konnte trotz einer exzessiven Alkoholaufnahme keine deutliche Verschlechterung der Plasma- und Erythrozytenwerte beobachtet werden [CYLWIK et al., 2013]. Der Status an Vitamin B<sub>12</sub> und Vitamin C scheint durch einen hohen Alkoholkonsum nicht oder nur geringfügig beeinträchtigt zu werden [GUILLAND et al., 1994, HESEKER et al., 1992, ROSS et al., 2012].

Zahlreiche Studien bestätigen somit einen mehr oder weniger großen Einfluss des Alkoholkonsums auf den Status ausgewählter wasserlöslicher Vitamine. Da die ursprüngliche Versorgungssituation des jeweiligen Nährstoffes ausschlaggebend für das Risikopotenzial einer Unterversorgung zu sein scheint [MIYAZAKI et al., 2012], sollten Personen, die regelmäßig Alkohol konsumieren, neben den zusätzlichen gesundheitlichen Risiken einer hohen Alkoholaufnahme eine ausreichende Nährstoffaufnahme beachten.

## **3 METHODEN**

### **3.1 STUDIENDESIGN**

Die Ernährungsstudie *Österreichische Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* der österreichischen Bevölkerung basierte auf einer Querschnittsstudie, finanziert vom *Bundesministerium für Gesundheit*, und wurde am *Institut für Ernährungswissenschaften* an der *Universität Wien* durchgeführt. Die vorliegenden Ergebnisse stammen aus den Daten des Projekts *Österreichischer Ernährungsbericht 2012* [ELMADFA et al., 2012] und sind eine Fortsetzung der Berichterstattung über den Ernährungszustand in Österreich [ELMADFA et al., 1998, ELMADFA et al., 2003, ELMADFA et al., 2009]. Im Vordergrund der Erhebungen standen die objektiven Messverfahren der biochemischen Bestimmung des Nährstoffstatus, welche erstmals großflächig in Österreich an verschiedenen Bevölkerungsgruppen durchgeführt wurden.

Alle Studienteilnehmer wurden über ein für Geschlecht, Alter und geografische Region stratifiziertes Quotensampling rekrutiert, sodass die Stichprobe annähernd der Grundgesamtheit in Österreich entsprach. Zu beachten gilt, dass die Teilnahme an der Studie auf freiwilliger Basis erfolgte und somit ein Selektionsbias nicht ausgeschlossen werden kann. Durch die gesetzmäßigen Bestimmungen des Datenschutzes wurden die Daten anonym ausgewertet und weiterbearbeitet. Alle Studienteilnehmer mussten eine Einwilligungserklärung unterzeichnen, die von der Ethikkommission der Stadt Wien überprüft und durch ein positives Votum (EK\_10\_037\_0310) abgesegnet wurde. Die Feldstudie erstreckte sich über einen Zeitraum von eineinhalb Jahren (August 2010 bis Februar 2012) und berücksichtigte somit saisonale Schwankungen.

Die Einteilung der Stichprobe erfolgte in 3 Altersgruppen: Kinder (7–14 Jahre), Erwachsene (18–64 Jahre) und Senioren (65–80 Jahre). Diese Einteilung wurde aufgrund einer Vergleichbarkeit vorhergehender Ernährungsberichte [ELMADFA I et

al., 1998, ELMADFA I et al., 2003, ELMADFA I et al., 2009] und der aktuell gültigen Referenzwerte [D-A-CH, 2012] getroffen. Insgesamt nahmen 1002 Personen (387 Kinder, 419 Erwachsene und 196 Senioren) an der Querschnittsstudie teil.

Die Erhebungsinstrumente der Studie beinhalteten einen Fragebogen, der soziodemographische sowie gesundheitsrelevante Fragen enthielt. Zur Erfassung der Ernährungsgewohnheiten wurden für Erwachsene zwei 24-h-Recalls herangezogen, die teilnehmenden Kinder füllten ein 3-Tagesschätzprotokoll, wenn nötig mit Unterstützung der Eltern, aus. Weiters wurden anthropometrische Untersuchungen durchgeführt und Blut- sowie Harnproben für die biochemische Analyse entnommen. Aufgrund der invasiven Erhebungsmethoden wurde sowohl für die Probanden als auch die Mitarbeiter der Feldstudie eine Versicherung abgeschlossen (Wiener Städtische, Versicherungspolizze Nr. 08-U875.328; 23.02.2010).

## **3.2 ANGEWANDTE ERHEBUNGSMETHODEN**

### **3.2.1 Fragebogen**

Der Fragebogen enthielt Fragen zu soziodemographischen Daten (Alter, Geschlecht, Bildung, Beruf, Familienstand, Wohngebiet), Körpergröße und Gewicht sowie für diese Arbeit relevanten Einflussfaktoren auf den Status der wasserlöslichen Vitamine (Alkoholkonsum, Medikamente, Tabak und Supplemente). Die Studienteilnehmer füllten den Fragebogen selbstständig aus. Zusätzlich erfasste Information der Probanden, beispielsweise zum Thema Nahrungsmittelintoleranzen oder Bewegung, sind im *Österreichischen Ernährungsbericht 2012* angeführt und werden in der vorliegenden Arbeit nicht weiter behandelt [ELMADFA et al., 2012].

#### **3.1.1.1 Bildung**

Die höchste abgeschlossene Ausbildung wurde aus dem Fragebogen durch fünf Antwortmöglichkeiten ermittelt: „Volksschule“, „Hauptschule/AHS-Unterstufe/Berufsschule/berufsbildende mittlere Schule“, „berufsbildende höhere Schule/AHS-Oberstufe“ und „Universität/Fachhochschule“. Diese Kategorien wurden in niedriges Bildungsniveau, mittleres Bildungsniveau und hohes Bildungsniveau

zusammengefasst. Um eine Vergleichbarkeit mit den *International Standard Classification of Education* (ISCED) 2011 zu schaffen wurde ISCED Level 0, 1 und 2 (entspricht in Österreich der Volksschule und Hauptschule/AHS-Unterstufe) in niedriges Bildungsniveau, ISCED Level 3, 4 und 5 (Berufsschule/berufsbildende mittlere Schule und berufsbildende höhere Schule/AHS-Oberstufe) in mittleres Bildungsniveau und ISCED Level 6, 7 und 8 (Universität/Fachhochschule) in hohes Bildungsniveau zusammengefasst [UNESCO, 2012].

### **3.1.1.2 Beruf**

Die Unterteilung der Berufsgruppen der Erwachsenen und Senioren erfolgte nach dem EFG (Erikson, Goldthorpe und Portocarero) – Schema in drei Bereiche: „Unternehmer, Angestellte und Beamte“, „Arbeiter“ und „nicht Erwerbstätige“ [KUNST, 2001]. Auf die Frage nach dem Einkommen wurde in den Erhebungen verzichtet, da die Probandenkooperation zu diesem Thema sehr problematisch ist und oftmals nicht beantwortet wird [TURRELL, 2000].

### **3.1.1.3 Familienstand**

Die Antwortmöglichkeiten des Familienstandes beinhalteten: „verheiratet/Lebensgemeinschaft“, „getrenntlebend/geschieden/verwitwet“ und „ledig“.

### **3.1.1.4 Wohngebiet**

Das Wohngebiet konnte in „Stadt“, „Stadtumgebung“ und „Land“ differenziert werden. In der Ernährungsstudie *Österreichische Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* wurde zusätzlich eine Aufteilung in Ost- und Westösterreich getroffen, um regionale Unterschiede innerhalb der Bevölkerung aufzuzeigen. Diese Unterschiede sind im *Österreichischen Ernährungsbericht 2012* ausführlich angeführt und werden daher in der vorliegenden Arbeit nicht wiederholt behandelt [ELMADFA et al., 2012].

### **3.1.1.5 Body Mass Index (BMI)**

Die Klassifikation des BMI erfolgte nach den WHO-Kriterien für Erwachsene: Untergewicht  $<18,5 \text{ kg/m}^2$ , Normalgewicht  $18,5–24,9 \text{ kg/m}^2$ , Übergewicht  $25–29,9 \text{ kg/m}^2$  und Adipositas  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$  [WHO, 2004]. Senioren unterlagen einer anderen

Einteilung, ein Normbereich für über 65-Jährige von 24–29,99 kg/m<sup>2</sup> wurde zur Klassifikation angewandt [NRC, 1989]. Für Kinder wurden alters- und geschlechtsspezifische Perzentilwerte als Cut-Off-Punkte aus Untersuchungen in Deutschland herangezogen. Das 10. Perzentil wurde zur Definition von Untergewicht, das 90. bzw. 97. Perzentil als Grenzwert für Übergewicht bzw. Adipositas herangezogen [KROMEYER-HAUSCHILD et al., 2001].

### **3.1.1.6 Relevante Einflussfaktoren**

Die für den Vitaminstatus relevanten Einflussfaktoren beinhalteten den täglichen Konsum von Nährstoffsupplementen, Tabak, Medikamenten und Alkohol und wurden mittels „ja“ und „nein“ beantwortet. Die Fragen beziehen sich auf den Untersuchungszeitraum und erfassen nicht ein z.B. vorhergehendes Rauchverhalten.

## **3.2.2 Verzehrserhebungen**

### **3.2.2.1 24-h-Recall**

Zwei 24-h-Recalls wurden jeweils im Abstand von zwei Wochen durch ein Interview bei den Erwachsenen und Senioren durchgeführt. Mit Hilfe eines 24-h-Recalls können die Art und die Menge des verzehrten Lebensmittels oder der Speise erfasst werden und somit alle Lebensmittel inklusive Getränke des vergangenen Tages aufgezeichnet und protokolliert werden. Es handelt sich um eine retrospektive Ernährungserhebungsmethode, welche häufig bei einem größeren Studienkollektiv angewandt wird, da sie relativ leicht durchführbar und mit einem geringen Zeitaufwand verbunden ist. Die Genauigkeit der Methode ist abhängig vom Erinnerungsvermögen der zu befragenden Person, Speisen können vergessen oder absichtlich nicht erwähnt werden, die Portionsgrößen können falsch angegeben oder eingeschätzt werden [SAUBERLICH, 1999]. Um das Ernährungsverhalten qualitativ aber auch quantitativ genau bestimmen zu können, wurde mit Fotobüchern, die Abbildungen der Portionsgrößen der jeweiligen Lebensmitteln und Speisen zeigten, gearbeitet. Weiters wurde mit einem standardisierten Befragungsprotokoll gearbeitet, um die Fehleranfälligkeit zu minimieren und die Genauigkeit der Befragung zu

optimieren. Das zweite Interview erfolgte nicht persönlich, sondern durch eine Befragung über das Telefon.

### **3.1.2.2 3-Tageschätzprotokoll**

Für Kinder wurde das 3-Tageschätzprotokoll, eine prospektive Verzehrerhebungsmethode, angewandt, da dieses nicht alleine auf dem Erinnerungsvermögen beruht [ELMADFA und LEITZMANN, 2004]. Alle Kinder protokollierten somit, wenn möglich selbstständig oder mit Hilfe der Eltern, ihre konsumierten Lebensmittel inklusive Getränke an 3 aufeinanderfolgenden Tagen. Die Art und Menge des verzehrten Lebensmittels wurden erfasst und auch hier halfen Abbildungen der unterschiedlichen Speisen und Getränke, die Portionsgrößen genau einschätzen zu können.

### **3.1.2.3 Auswertung**

Die Auswertung der Verzehrerhebungen erfolgte mit Hilfe einer Access Datenbank, dem Bundeslebensmittelschlüssels BLS.II.3.1 aus Deutschland [HARTMANN et al., 2005], der durch österreichische Rezepte und Speisen vervollständigt wurde. Das Softwareprogramm Nut.s wurde für die Nährstoffberechnung verwendet. Der Erhebungszeitraum erstreckte sich über eineinhalb Jahre (August 2010 bis Februar 2012) und beinhaltete somit saisonal konsumierte Lebensmittel. Die Identifikation von Over- und Underreporting wurde nach den Methoden von GOLDBERG et al. [1991] und FERRARI et al. [2002] getroffen. Hierbei wurden Personen mit unrealistisch hohen oder niedrigen Energieaufnahmen, unter Berücksichtigung des Grundumsatzes (Berechnung nach Schofield [1985]), ausgeschlossen. Die Cut-Offs wurden mit einem Physical Activity Level von 1,55 und einem 99,7-prozentigen Konfidenzintervall angenommen. Die daraus resultierenden Cut-Offs für Kinder waren unter dem 0,81fachen bzw. über dem 2,98fachen und bei den Erwachsenen und Senioren unter dem 0,76fachen bzw. über dem 3,16fachen des Grundumsatzes und identifizierten somit 10,3 % der Kinder, 9,1 % der Erwachsenen und 9,7 % der Senioren als Over- oder Underreporter. Sie wurden bei den Auswertungen der Verzehrsdaten ausgeschlossen.

### 3.2.3 Anthropometrische Untersuchungen

Die Körpergröße (in m) und das Körpergewicht (in kg) der Studienteilnehmer wurde mittels kalibrierter Waage und standardisiertem Stadiometer gemessen, um daraus den Body Mass Index (BMI) nach der Formel  $BMI = \text{kg}/\text{m}^2$  berechnen zu können.

### 3.2.4 Biochemische Untersuchungen

Für die biochemische Bestimmung des Status an wasserlöslichen Vitaminen wurde den teilnehmenden Personen Venenblut im Nüchternzustand entnommen und in mit Heparin versetzte Röhrchen (Heparinröhrchen: Lithium Heparin 9 ml, Greiner bio-one) überführt sowie Spontanharnproben in verschließbaren Plastikbechern gesammelt. Das Probenmaterial wurde nach der Entnahme gekühlt, lichtgeschützt und wenn möglich sofort ans *Institut für Ernährungswissenschaften* transportiert und aufgearbeitet. Konnte der Transportweg nach Wien nicht in 3 Stunden bewältigt werden, wie zum Beispiel bei Untersuchungen in Tirol, wurden die Blut- und Harnproben vor Ort aufgearbeitet und auf Trockeneis, ohne die Kühlkette zu unterbrechen, nach Wien transportiert, um mögliche Konzentrationsabnahmen der Nährstoffe zu minimieren.

## 3.3 EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN

Alle Studienteilnehmer mussten die unten angeführten Kriterien erfüllen, um an der Studie teilnehmen zu können:

**Tab. 8: Ein- und Ausschlusskriterien**

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Alter: 7–14 Jahre, 18–80 Jahre	Alter: <7 Jahre, 15–17 Jahre, >80 Jahre
Nationalität: Österreich	Nationalität: alle außer Österreich
	Schwangerschaft

## 3.4 PROBENAUFBEREITUNG UND LAGERUNG

### 3.4.1 Plasma

Die Vollblutproben wurden zur Trennung des plättchenreichen Plasmas von dem erythrozytenreichen Unterstand für 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde für die Analysen entnommen, portioniert, mit Stickstoff begast und bis zur weiteren Bestimmung bei -80°C tiefgefroren.

### 3.4.2 Erythrozyten

Die im Blutabnahmeröhrchen verbleibenden, vom Plasma getrennten Erythrozyten (erythrocyte packed cells, EPCs) wurden drei Mal mit isotonischem Phosphatpuffer (pH 7,4) gewaschen und erst dann portioniert, mit physiologischer NaCl (0,85 %) versetzt und bis zur Analyse tiefgefroren (-80°C).

Herstellung des isotonischen Phosphatpuffers (pH 7,4):

1,42 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

7,27 g NaCl

0,19 g Na<sub>2</sub>EDTA

In einen 1000 ml Messkolben überführen, auf ca. 950 ml mit aqua<sub>dest.</sub> auffüllen, mit 0,1 N HCl auf pH 7,4 einstellen und mit weiterem aqua<sub>dest.</sub> auf 1000ml auffüllen.

### 3.4.3 Harn

Die Analyse von Kreatinin im Harn erfolgte immer am jeweiligen Untersuchungstag. Die restlichen Harnproben wurden wie die Blutproben portioniert, mit Stickstoff begast und bei -80°C bis zur Analyse gelagert.

### 3.5 UNTERSUCHTE BIOCHEMISCHE PARAMETER UND QUALITÄTSKRITERIEN

Um den Status der wasserlöslichen Vitamine der österreichischen Bevölkerung bestimmen zu können, wurden folgende biochemischen Parameter (VP und FP) analysiert und die jeweiligen Intra- und Interassayvariationskoeffizienten zur Qualitätssicherung erfasst:

**Tab. 9: Übersicht der biochemischen Parameter (Versorgungs- und Funktionsparameter), Analysemethoden und Qualitätssicherung**

Parameter	Methode	Intraassay-VK <sup>1</sup>	Interassay-VK <sup>2</sup>
<b>Vitamin B<sub>1</sub></b>			
VP	Bestimmung von Thiamin im Harn mittels HPLC	4,5 %	7,4 %
FP	Aktivierungstest der Transketolase in den Erythrozyten mittels photometrischer Bestimmung	4,4 %	5,2 %
<b>Vitamin B<sub>2</sub></b>			
VP	Bestimmung von Riboflavin im Harn mittels HPLC	0,9 %	4,7 %
FP	Aktivierungstest der Glutathionreduktase in den Erythrozyten mittels photometrischer Bestimmung	4,2 %	5,1 %
<b>Vitamin B<sub>6</sub></b>			
VP	Bestimmung von Pyridoxal-5-Phosphat im Plasma mittels HPLC	0,7 %	5,2 %
FP	Aktivierungstest der Aspartataminotransferase in den Erythrozyten mittels photometrischer Bestimmung	4,3 %	6,7 %
<b>Vitamin B<sub>12</sub></b>			
VP	Bestimmung von Vitamin B <sub>12</sub> im Plasma mittels Radioimmunoassay	4,9 %	6,4 %
<b>Folat</b>			
VP	Bestimmung von Folat im Plasma mittels Radioimmunoassay	6,3 %	9,3 %
FP	Bestimmung von Homocystein im Plasma mittels HPLC	1,9 %	5,1 %
<b>Vitamin C</b>			
VP	Bestimmung von Ascorbinsäure im Plasma mittels HPLC	0,9 %	4,6 %

<sup>1</sup>Intraassay-Variationskoeffizient entspricht einer Mehrfachbestimmung von derselben Probe (10-mal) an einem Analysetag

<sup>2</sup>Interassay-Variationskoeffizient entspricht einer Mehrfachbestimmung von derselben Probe an den verschiedenen Analysetagen

### 3.6 BIOCHEMISCHE ANALYSEMETHODEN

#### 3.6.1 Bestimmung von Vitamin B<sub>1</sub> im Harn

##### Testprinzip

Durch die Oxidation im alkalischen Milieu wird Thiamin in Thiochrom überführt, welches im UV-Licht blauviolett fluoresziert und somit nachgewiesen werden kann. Bei

dieser Messmethode wird Licht einer gewählten Wellenlänge ausgesandt und von dem Analyten teilweise absorbiert, ein Teil der Energie wird allerdings von Licht höherer Wellenlänge wieder ausgesandt (Fluoreszenz). Dieses Licht kann nun von einer Photozelle bei einer bestimmten Emissionswellenlänge erfasst und über den Detektor als Peak dargestellt werden. Die Peakfläche ist dabei proportional zur Konzentration an Thiamin in der Probe. Die Bestimmung von freiem Thiamin mittels Reversed-Phase HPLC und anschließender fluorimetrischer Detektion erfolgte nach der Methode von TALWAR et al. [2000].

### Geräte

**Tab. 10: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Vitamin B<sub>1</sub> im Harn**

<b>Geräte</b>	
Isokratische Pumpe	Schimadzu, LC-20AT
Schlauchpumpe	Schimadzu, LC-10AD
Fluoreszenzdetektor	Schimadzu, RF-20A
Autosampler	Schimadzu, SIL-20ACHT
Säulenofen	Schimadzu, CTO-10AC
Vorsäule und analytische Säule	ClinRep® Recipe Reversed Phase
Integrator und Auswertungssoftware	Labsolutions Version 5.3
<b>HPLC-Messbedingungen</b>	
Flussrate	Mobile Phase: 1,0 ml/min, Reagenz N: 0,1 ml/min
Druck	ca. 126 bar
Säulentemperatur	35°C
Injektionsvolumen	50 µl
Retentionszeiten	ca. 5,2 min
Laufzeit	8 min
Wellenlänge	Extinktion: 376 nm, Emission: 435 nm
Nachweisgrenze	0,2 µg/l

### Reagenzien

Die Analyse erfolgte mit dem ClinRep® Testkit für Vitamin B<sub>1</sub> im Vollblut (Nr. 24000) der Firma Recipe Chemicals + Instruments GmbH, München, Deutschland.

Mobile Phase: (Nr. 24010)

Reagenz A: Fällungsreagenz (Nr. 24021)

Reagenz S: Stabilisierungsreagenz (Nr. 24626)

Reagenz C, D, E: Oxidation (Nr. 24021, 24023, 24024)

Reagenz N: alkalisches Reagenz zur Signalverstärkung der Peaks (Nr. 24027)

## Durchführung

Die Harnproben wurden zur Thiaminbestimmung 1:5 mit aqua<sub>dest.</sub> verdünnt und anschließend nach dem Probenvorbereitungsschema in Abb. 8 zur HPLC-Analyse vorbereitet.

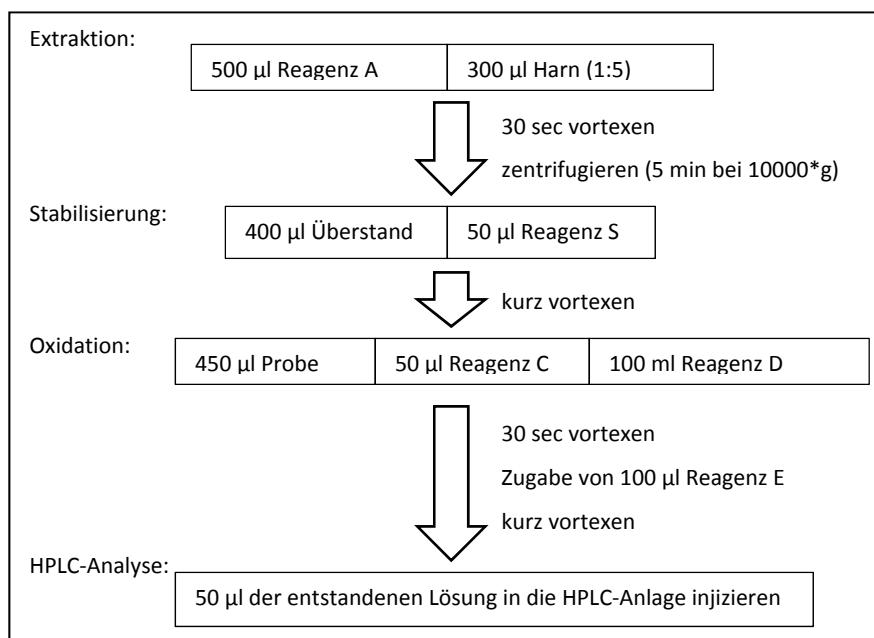


Abb. 8: Probenvorbereitungsschema der Vitamin B<sub>1</sub>-Bestimmung im Harn

## Auswertung

Die Integration der Peakflächen erfolgte durch das Softwareprogramm Labsolutions (Version 5.3). Die Berechnung der Thiaminkonzentration wurde durch die externe Standardmethode über die Peakfläche ermittelt.

### 3.6.2 Bestimmung der Aktivität der Vitamin B<sub>1</sub>-abhängigen erythrozytären Transketolase (ETK)

#### Testprinzip

Die Aktivität des Enzyms der Transketolase wurde in den Erythrozyten nach der Methode von Hötzl und Bitsch [1976] modifiziert. Die biologisch aktive Form von Vitamin B<sub>1</sub>, das Thiaminpyrophosphat (TPP), dient als Coenzym für die Transketolase, die aufgrund ihrer Empfindlichkeit für einen Thiaminmangel ein verlässlicher Funktionsparameter für die Bestimmung des Vitamin B<sub>1</sub>-Status ist. Gemessen wurde die Aktivierbarkeit der erythrozytären Transketolase durch TPP. Die Beurteilung des

Vitamin B<sub>1</sub>-Status erfolgte anhand des Quotienten aus stimulierter und unstimulierter Aktivität, dem so berechneten Aktivierungskoeffizienten α-ETK. Je größer die Stimulierung durch zugefügtes TPP war, umso größer war der Mangel an Vitamin B<sub>1</sub>.

### **Geräte**

Photometer: Unicam UV/VIS Spectrometer

### **Reagenzien**

NaCl (0,85 %)

- 850 mg NaCl (Sigma 71380) in 100 ml aqua<sub>dest.</sub> lösen

Saponinlösung

- 25 mg Saponin (Sigma 84510) in 100 µl aqua<sub>dest.</sub> lösen
- alle 2–3 Tage neu herstellen und im Kühlschrank lagern

Puffer (pH 7,4)

- 3,58 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Riedel-de Haën 04248)
- 9,26 g KCl (Riedel-de Haën 31248)
- 280 mg NaCl (Sigma 71380)
- 296 mg MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O (Riedel-de Haën 13142)
- jedes Reagenz in wenig aqua<sub>dest.</sub> lösen, mischen und auf 1000 ml mit aqua<sub>dest.</sub> auffüllen
- mit 0,1N HCl (Riedel-de Haën 30723) auf pH 7,4 einstellen
- im Kühlschrank lagern

Cocarboxylase (TPP Chlorid)

- 19,15 mg TPP (Sigma 8754) in 10 ml Puffer auflösen, in 1 ml Caps pipettieren und bei -20°C bis zur Analyse einfrieren

Ribose-5-Phosphat (R-5-P)

- 100 mg R-5-P (Sigma R7750) in 15 ml Puffer lösen, in 1 ml Caps pipettieren und bei -20°C bis zur Analyse einfrieren

TCA (15 %)

- 15 g TCA (Sigma 33731) in 100 ml aqua<sub>dest.</sub> lösen
- im Kühlschrank lagern

### Schwefelsäure (95–97 %)

- 79 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Fluka 84720) mit 21 ml aqua<sub>dest.</sub> vorsichtig mischen
- im Kühlschrank lagern

### Durchführung

400 µl EPCs wurden mit 320 µl 0,85%iger NaCl-Lösung versetzt, mit Stickstoff begast und bis zur weiteren Analyse bei -80°C tiefgefroren. Nach dem Auftauen wurden 200 µl dieser Suspension entnommen, mit 600 µl Saponinlösung zur Hämolyse der Erythrozyten versetzt, gemischt und für 15 min im Dunkeln inkubiert. Der Aktivierungstest der ETK erfolgte in zwei Probenansätzen, einmal mit und einmal ohne TPP, nach dem folgenden Pipettierschema:

**Tab. 11: Pipettierschema des Aktivierungstests der Transketolase in den Erythrozyten (ETK)**

Lösungen	Probenansatz ohne TPP-Zugabe	Probenansatz mit TPP-Zugabe
Hämolsat (µl)	200	200
Puffer (µl)	50	---
TPP (µl)	---	50
<b>15 min bei 37°C inkubieren</b>		
R-5-P (µl)	250	250
<b>20 min bei 37°C inkubieren</b>		
TCA (µl)	250	250

Die Enzymreaktion wurde durch die Zugabe von TCA gestoppt. Danach wurden beide Probenansätze bei 3000 U/min für 3 min zentrifugiert. 200 µl des Überstandes wurden mit 1 ml eisgekühlter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt, kurz gemischt und bei 100°C im Wasserbad erhitzt. Nach der Farbreaktion wurden die Proben 2 min im Eisbad gekühlt und bei den Wellenlängen 405 nm und 266 nm gegen Wasser gemessen.

### Auswertung

Der Aktivierungskoeffizient der ETK ( $\alpha$ -ETK) wurde wie folgt berechnet:

$$\Delta E_{ETK} = E_{405} - E_{366}$$

$$\alpha\text{-ETK} = \Delta E_{ETK \text{ mit Zugaben von TPP}} / \Delta E_{ETK \text{ ohne Zugabe von TPP}}$$

Der Stimulationseffekt (TPP-Effekt) versteht sich als Funktionssteigerung (in %) des Enzyms und wird folgendermaßen berechnet:

$$\text{TPP-Effekt} = (\alpha\text{-ETK} - 1) * 100$$

### 3.6.3 Bestimmung von Vitamin B<sub>2</sub> im Harn

#### Testprinzip

Zur Vitamin B<sub>2</sub>-Statusbestimmung wurde Riboflavin im Harn als VP herangezogen und nach der Methode von CAPO-CHICHI et al. [2000] gearbeitet. Bei der Analysemethode handelte es sich um eine Reversed-Phase-HPLC-Bestimmung mit anschließender fluorimetrischer Detektion. Nach der chromatographischen Trennung der Probenbestandteile wurde Licht der gewählten Wellenlänge ausgesandt und von den Analyten teilweise absorbiert, einen Teil der Energie gaben die Probenbestandteile in Form von Licht höherer Wellenlänge ab, sie konnten vom Detektor erfasst und als Peak dargestellt werden. Die im Harn ausgeschiedene Form des Vitamin B<sub>2</sub> ist das Riboflavin, welches quantitativ über die Peakfläche berechnet wurde.

#### Geräte

**Tab. 12: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Vitamin B<sub>2</sub> im Harn**

<b>Geräte</b>	
Isokratische Pumpe	Schimadzu, LC-20AT
Fluoreszenzdetektor	Schimadzu, RF-20A
Autosampler	Schimadzu, SIL-20ACHT
Säulenofen	Schimadzu, CTO-10AC
Vorsäule und analytische Säule	ClinRep® Recipe Reversed Phase
Integrator und Auswertungssoftware	Labsolutions Version 5.3
<b>HPLC-Messbedingungen</b>	
Flussrate	Mobile Phase: 1,0 ml/min
Druck	ca. 130 bar
Säulentemperatur	40°C
Injektionsvolumen	50 µl
Retentionszeiten	ca. 8 min
Laufzeit	10 min
Wellenlänge	Extinktion: 450 nm, Emission: 530 nm
Nachweisgrenze	10 µg/l

#### Reagenzien

Die Analyse erfolgte mit dem ClinRep® Testkit für Vitamin B<sub>2</sub> im Vollblut (Nr. 25000) der Firma Recipe Chemicals + Instruments GmbH, München, Deutschland.

Präzipitationsreagenz P (Nr. 25021)

Stabilisierungsreagenz S (Nr. 25022)

Mobile Phase (Nr. 25010)

### Durchführung

Die Harnproben wurden 1:5 mit aqua<sub>dest.</sub> verdünnt, davon wurden 200 µl entnommen und mit 300 µl Präzipitationsreagenz P versetzt und weitere 30 sec gevortext. 500 µl Stabilisierungsreagenz S wurden hinzugefügt, kurz gemischt, und 5 min bei 10000\*g zentrifugiert. 50 µl des Überstandes wurden in die HPLC-Anlage injiziert und die aufbereitete Probe chromatographisch in ihre Einzelkomponenten aufgetrennt.

### Auswertung

Die Integration der Peakflächen erfolgte mittels des Programms Labsolutions (Version 5.3). Die Berechnung der Konzentrationen wurde durch die externe Standardmethode über die Peakfläche ermittelt.

### **3.6.4 Bestimmung der Aktivität der Vitamin B<sub>2</sub>-abhängigen erythrozytären Glutathionreduktase (EGR)**

#### Testprinzip

Der Aktivierungstest des Enzyms der Glutathionreduktase in den Erythrozyten basiert auf der Methode von BEUTLER [1969] und gilt als FP zur Bestimmung des Vitamin B<sub>2</sub>-Status. Riboflavin ist ein Teil des Coenzyms Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD), FAD ist somit für die Aktivität des Flavoenzyms EGR verantwortlich. Die EGR ist an zahlreichen Redoxreaktionen beteiligt, sie katalysiert in den Erythrozyten die NADPH<sub>2</sub>-abhängige Regenerationsreaktion des oxidierten Glutathions (GSSG).



Da durch die Reduktion NADPH<sub>2</sub> verbraucht wird, kann dessen Abnahme während der Reaktion photometrisch gemessen werden. Bei dieser Methode wird die Aktivierbarkeit der NADPH<sub>2</sub>-abhängigen EGR durch FAD ermittelt. Der Quotient aus stimulierter und unstimulierter Aktivität ( $\alpha$ -EGR) ermöglicht die Diagnostik eines

Riboflavinmangels. Je größer die Stimulierung durch zugefügtes FAD ist, umso größer ist der Mangel an Vitamin B<sub>2</sub>.

### Geräte

Photometer: Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer

### Reagenzien

Kaliumphosphatpuffer (pH 7,4)

Lösung A (0,1 mol/l)

- 3,4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Riedel-de Haën 30407) in 250 ml aqua<sub>dest.</sub> lösen

Lösung B (0,1 mol/l)

- 18,09 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Riedel-de Haën 04248) in 1000 ml aqua<sub>dest.</sub> lösen

Ca. 100 ml Lösung B in ein Becherglas füllen und mit Lösung A auf pH 7,4 titrieren, ca. 2 Wochen bei 4°C haltbar

Na<sub>2</sub>EDTA-Lösung

- 1,5 g Titriplex (Etylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz-Dihydrat, Riedel-de Haën 27285) in 50 ml aqua<sub>dest.</sub> lösen
- bei 4°C eine Woche haltbar

Natriumhydrogencarbonat (1 %)

- 10 g NaHCO<sub>3</sub> (Fluka 71628) in 1000 ml aqua<sub>dest.</sub> lösen
- bei 4°C ca. ein Jahr haltbar

Saponinlösung

- 75 mg Saponin (Sigma 84510) in 25 ml 0,85%iger NaCl lösen
- bei 4°C 2–3 Tage haltbar

NADPH<sub>2</sub>-Lösung (2,89 mmol/l)

- 12,05 mg Tetranatriumsalz (Biochemika 93229) einwiegen und mit 5 ml Natriumhydrogencarbonatlösung auflösen
- täglich frisch herstellen, auf Eis und dunkel lagern

FAD-Lösung (100 mmol/l)

- 1 mg FAD (Sigma F6625) in 12 ml aqua<sub>dest.</sub> lösen
- täglich frisch herstellen, auf Eis und dunkel lagern

### GSSG-Lösung (49 mmol/l)

- 75,05 mg oxidiertes Glutathion (Sigma G4646) in 2,5 ml Natronlauge (2 g/l, Riedel-de Haen 06203) lösen
- täglich frisch herstellen, auf Eis und dunkel lagern

### Durchführung

100 µl EPCs wurden mit 450 µl 0,85%iger NaCl-Lösung versetzt, mit Stickstoff begast und bis zur weiteren Analyse bei -80°C tiefgefroren. Nach dem Auftauen wurde diese Suspension mit 50 µl Saponinlösung zur Hämolyse der Erythrozyten versetzt, gemischt und für 20 min im Dunkeln inkubiert. 200 µl des Hämolsats wurden mit 600 µl aqua<sub>dest.</sub> verdünnt und das folgende Pipettierschema für den Aktivierungstest durchgeführt:

**Tab. 13: Pipettierschema des Aktivierungstests der Glutathionreduktase in den Erythrozyten (EGR)**

Lösungen	Probenansatz mit FAD-Zugabe	Probenansatz ohne FAD-Zugabe
Puffer (ml)	2	2
Na <sub>2</sub> EDTA (µl)	50	50
Hämolsat (µl)	100	100
GSSG (µl)	100	100
FAD (µl)	100	---
aqua <sub>dest.</sub> (µl)	---	100
<b>15 min bei 37°C inkubieren</b>		
NADPH <sub>2</sub> (µl)	100	100

Die photometrische Messung erfolgte nach 2 min Vorreaktion bei einer Wellenlänge von 334 nm. Die Extinktionsabnahme von NADPH<sub>2</sub> wurde im Verlauf von 5 min linear aufgezeichnet.

### Auswertung

Der Aktivierungskoeffizient der EGR ( $\alpha$ -EGR) wurde wie folgt berechnet:

$$\text{AK} = \Delta E_{\text{mit FAD-Zugabe}} / \Delta E_{\text{ohne FAD-Zugabe}}$$

Der Stimulationseffekt (FAD-Effekt) versteht sich als Funktionssteigerung (in %) der EGR und wird folgendermaßen berechnet:

$$\text{FAD-Effekt} = (\alpha\text{-EGR} - 1) * 100$$

### 3.6.5 Bestimmung von Vitamin B<sub>6</sub> im Plasma

#### Testprinzip

Im vorliegenden Testansatz wurden die Analyte Pyridoxal und Pyridoxal-5-Phosphat fluoreszenzspektrometrisch detektiert, wobei die Plasmaproben einer kurzen Probenvorbereitung unterzogen wurden. Bei dieser Messmethode wurde Licht einer gewählten Wellenlänge ausgesandt und von den beiden Analyten teilweise absorbiert. Licht höherer Wellenlänge wurde wieder ausgesandt und von einer Photozelle des Detektors bei einer bestimmten Emissionswellenlänge erfasst und als Peak, welcher proportional zur Konzentration der nachzuweisenden Substanzen ist, dargestellt. Diese Messmethode beruht auf dem Prinzip von Kapitel 3.6.1.

#### Geräte

**Tab. 14: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Vitamin B<sub>6</sub> im Plasma**

<b>Geräte</b>	
Isokratische Pumpe	Schimadzu, LC-20AT
Schlauchpumpe	Schimadzu, LC-10AD
Fluoreszenzdetektor	Schimadzu, RF-20A
Autosampler	Schimadzu, SIL-20ACHT
Säulenofen	Schimadzu, CTO-10AC
Vorsäule und analytische Säule	ClinRep® Recipe Reversed Phase
Integrator und Auswertungssoftware	Labsolutions Version 5.3
<b>HPLC-Messbedingungen</b>	
Flussrate	Mobile Phase: 1,0 ml/min Reagenz N: 0,2 ml/min
Druck	ca. 130 bar
Säulentemperatur	35°C
Injektionsvolumen	50 µl
Retentionszeiten	PLP ca. 4,3 min, Pyridoxal ca. 6,4 min
Laufzeit	8 min
Wellenlänge	Extinktion: 370 nm, Emission: 470 nm
Nachweisgrenze	0,4 µg/l

#### Reagenzien

Die Analyse erfolgte mit dem ClinRep® Testkit für Vitamin B<sub>6</sub> im Vollblut oder Plasma (Nr. 26000) der Firma Recipe Chemicals + Instruments GmbH, München, Deutschland.

Mobile Phase ( Nr. 26010)

Reagenz N (Nr. 24626)

Präzipitationsreagenz P (Nr. 26021)

## Durchführung

100 µl Plasma wurden mit 100 µl Präzipitationsreagenz P zur Proteinfällung hinzugefügt, 30 sec gevortext und 5 min bei 10000\*g zentrifugiert. 50 µl des entstandenen Überstandes wurden in die HPLC-Anlage injiziert und die aufbereitete Probe chromatographisch in ihre Einzelkomponenten aufgetrennt.

## Auswertung

Die Integration der Peakflächen erfolgte mit dem Softwareprogramm Labsolutions (Version 5.3). Die Berechnung der Konzentrationen wurde durch die externe Standardmethode über die Peakflächen ermittelt.

## **3.6.6 Bestimmung der Aktivität der Vitamin B<sub>6</sub>-abhängigen erythrozytären Aspartataminotransferase (EAST)**

### Testprinzip

Die Aktivität des Enzyms der Aspartataminotransferase wurde in den Erythrozyten nach der Methode von SAUBERLICH et al. [1972] bestimmt. Die folgende Methode dient zur Bestimmung der Aktivierbarkeit des Vitamin B<sub>6</sub>-abhängigen Enzyms (EAST) durch Pyridoxal-5-Phosphat (PLP). EAST katalysiert die Transaminierungsreaktion von α-Ketoglutarat und L-Aspartat zu L-Glutamat und Oxalacetat, welches mit Hilfe des Enzyms der Malatdehydrogenase durch NADH-Verbrauch zu L-Malat und NAD umgesetzt wird. Die NADH-Abnahme kann photometrisch bestimmt werden. Steigt nun die Aktivität der EAST durch Zugabe von PLP über einen bestimmten Wert hinaus an, kann ein Vitamin B<sub>6</sub>-Mangel diagnostiziert werden.

### Geräte

Photometer: Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer

### Reagenzien

Triäthanolamin-Asparagin-Puffer

- Lösung A: 33,25 g L-Asparaginsäure (Merck 10026) einwiegen, 70 ml aqua<sub>dest.</sub> hinzufügen und 60 ml 4 N NaOH zugeben; den pH-Wert mit 1 N NaOH auf 7,5 einstellen und mit 500 ml aqua<sub>dest.</sub> auffüllen

- Lösung B: 9,3 g Triäthanolaminhydrochlorid (Merck 108357) in etwas aqua<sub>dest.</sub> lösen, 1 g Na<sub>2</sub>EDTA (Riedel-de Haen 27285) zugeben; mit 1 N NaOH den pH-Wert auf 7,5 einstellen und mit 500 ml aqua<sub>dest.</sub> auffüllen
- Lösung A und Lösung B 1:1 mischen; bei 4°C 14 Tage haltbar

#### 2-Oxoglutarsäure (0,2 M)

- 2,92 g 2-Oxoglutarsäure (Merck 5194) in etwas aqua<sub>dest.</sub> lösen und mit 1 N NaOH auf pH 6,8 titrieren
- mit aqua<sub>dest.</sub> auf 100 ml auffüllen
- bei 4°C 14 Tage haltbar

#### Malat-Dehydrogenase-Suspension (MDH)

- Malat-Dehydrogenase (Roche Diagnostics GmbH 11516032) 1:100 mit Puffer mischen
- täglich frisch herstellen

#### NADH (0,01 M)

- 14 mg NADH (Roche Diagnostics GmbH 10128023001) in 2 ml Puffer lösen
- täglich frisch herstellen

#### Pyridoxal-5-Phosphat

- 4 mg PLP (Sigma 9255) in 2 ml Puffer lösen
- täglich frisch herstellen

#### Saponinlösung

- 300 mg Saponin (Sigma 84510) in 100 ml 0,95%iger NaCl lösen
- bei 4°C 2–3 Tage haltbar

### Durchführung

100 µl EPCs wurden mit 450 µl 0,85%iger NaCl-Lösung versetzt, mit Stickstoff begast und bis zur weiteren Analyse bei -80°C tiefgefroren. Nach dem Auftauen wurde diese Suspension mit 50 µl Saponinlösung zur Hämolyse der Erythrozyten versetzt, gemischt und für 20 min im Dunkeln inkubiert. 200 µl des Hämolsats wurden des Weiteren mit 500 µl aqua<sub>dest.</sub> verdünnt und das folgende Pipettierschema in Tab. 15 für den Aktivierungstest und damit die photometrische Messung der NADH<sub>2</sub>-Abnahme durchgeführt.

Die photometrische Messung erfolgte nach 2 min Vorreaktion bei einer Wellenlänge von 334 nm. Die Extinktionsabnahme von NADH wurde im Verlauf von 5 min linear bei konstanten 37°C aufgezeichnet.

**Tab. 15: Pipettierschema des Aktivierungstests der erythrozytären Aspartataminotransferase (EAST)**

Lösungen	Probenansatz mit PLP-Zugabe	Probenansatz ohne PLP-Zugabe
Puffer (ml)	2	2
Hämolsat (µl)	100	100
MDH (µl)	50	50
NADH (µl)	50	50
PLP (µl)	20	---
aqua <sub>dest.</sub> (µl)	---	20
<b>15 min bei 37°C inkubieren</b>		
Oxoglutarsäure (µl)	200	200

### Auswertung

Der Aktivierungskoeffizient der EAST ( $\alpha$ -EAST) wurde wie folgt berechnet:

$$AK = \Delta E_{\text{mit PLP-Zugabe}} / \Delta E_{\text{ohne PLP-Zugabe}}$$

Der Stimulationseffekt (PLP-Effekt) versteht sich als Funktionssteigerung (in %) der EAST und berechnet sich folgendermaßen:

$$\text{PLP-Effekt} = (\alpha\text{-EAST} - 1) * 100$$

## 3.6.7 Bestimmung von Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure im Plasma

### Testprinzip

Die Analyse von Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure im Plasma erfolgte mit einem SimulTRAC-SNB Radioassay von MP Biomedicals, wobei beide Nährstoffe parallel in einem Analyseverfahren bestimmt wurden. Bei der Bestimmung von Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure handelte es sich um einen kompetitiven Proteinbindungsassay, bei dem das Bindungsprotein die gleiche Affinität sowohl für den Standard als auch für den Analyten bzw. Nährstoff in der Plasmaprobe hat. Der nicht markierte Nährstoff konkurriert mit dem radioaktiven Analog um die begrenzte Anzahl der Bindungsstellen am spezifischen Bindungsprotein, und verringert somit die Anzahl des gebundenen radioaktiven Vitamin B<sub>12</sub> und der gebundenen Folsäure. Die Menge des gebundenen

radioaktiven Analog ist umgekehrt proportional zur Konzentration des Nährstoffes in der Plasmaprobe oder dem Standard.

### **Geräte**

Zweikanal-Gammacounter

### **Reagenzien**

Die Analyse erfolgte mit dem SimulTRAC-SNB Radioassay Kit Vitamin B<sub>12</sub> [<sup>57</sup>Co]/Folsäure [<sup>125</sup>J], MP Diagnostics, New York, USA.

### **Tracer**

- <sup>57</sup>Co für Vitamin B<sub>12</sub> (<1,5 µCi bzw. 55,5 kBq)
- <sup>125</sup>J für Folsäure (<3 µCi bzw. 111 kBq)

### **Bindungsproteine**

- Schweine-Intrinsic-Factor für Vitamin B<sub>12</sub>
- Bindungsprotein aus Kuhmilch für Folsäure
- beide Bindungsproteine sind an einen festen Träger gebunden

### **Dithiothreitol-Lösung (DTT)**

- enthält DTT in Phosphatpuffer mit Stabilisator

### **Nullreagenz**

- enthält festen Träger ohne Bindungsprotein

### **Standards (1–6)**

- Cyanocobalamin für Vitamin B<sub>12</sub> (0; 74; 148; 296; 740 und 1480 pmol/l)
- Pteroylglutaminsäure für Folsäure (0; 2,3; 4,5; 9,1; 23 und 45 nmol/l)

### **Extraktionsreagenz**

- enthält 1,0 N Natriumhydroxid mit organischem Extraktionsverstärker und gelbem Farbstoff

### **Durchführung**

Alle Reagenzien wurden vor Beginn der Analyse auf Raumtemperatur gebracht. 200 µl Trace/DTT-Arbeitslösung wurden zu 200 µl Plasmaprobe/Standard hinzugefügt, gevortext und für 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Bei diesem Arbeitsschritt wurden die endogenen Plasmabindungsproteine für Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure zerstört.

Anschließend erfolgte eine Extraktion durch Zugabe von 100 µl Extraktionsreagenz und 10-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur. 1000 µl Bindungsprotein wurden zu den Proben nach sehr gutem Mischen hinzugefügt, gevortext und 60 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Anschließend wurden alle Röhrchen bei 1000\*g für 10 min zentrifugiert und der Überstand verworfen. Die Messung der Radioaktivität des Präzipitations erfolgte mit einem Gamma-Counter pro Minute.

### **Auswertung**

Die Auswertung der Konzentrationen von Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure erfolgte durch Interpolation über die Standardkurve, wobei der Prozentsatz der Bindungen den Konzentrationen der Nährstoffstandards gegenübergestellt wurde. Durch die prozentuale Bindung in der Plasmaprobe konnte somit die Konzentration über die Standards berechnet werden.

### **3.6.8 Bestimmung von Homocystein im Plasma**

#### **Testprinzip**

Die Bestimmung von Homocystein im Plasma wurde modifiziert nach den Methoden von ARAKI und SAKO [1987] und UBBINK et al. [1991]. Bei diesem Testansatz wurde das gesamte Homocystein (freies und auch proteingebundenes) im Plasma bestimmt. Die Thioplasmaverbindungen wurden mit Tri-n-Butylphosphin reduziert und somit aus dem Protein freigesetzt, mit TCA gefällt und abzentrifugiert. Durch eine Derivatisierung mit SBD-F konnte Homocystein nach einer chromatographischen Trennung in der HPLC mit einem Fluoreszenzdetektor bestimmt werden.

## Geräte

**Tab. 16: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Homocystein im Plasma**

<b>Geräte</b>	
Isokratische Pumpe	Schimadzu, LC-20AT
Fluoreszenzdetektor	Schimadzu, RF-20A
Autosampler	Schimadzu, SIL-20ACHT
Säulenofen	Schimadzu, CTO-10AC
Analytische Säule	LiChrospher 60 RP – Select B, 5 µm, 125*4 mm (Merck 50981)
Integrator und Auswertungssoftware	Labsolutions Version 5.3
<b>HPLC-Messbedingungen</b>	
Flussrate	Mobile Phase: 1,5 ml/min
Druck	ca. 87 bar
Säulentemperatur	25°C
Injektionsvolumen	20 µl
Retentionszeiten	Homocystein ca. 2 min
Laufzeit	4 min
Wellenlänge	Extinktion: 385 nm, Emission: 515 nm
Nachweisgrenze	0,4 µg/l

## Reagenzien

Kaliumdihydrogenphosphatpuffer (0,1 mol/l)

- 13,609 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Riedel-de Haën 30407) in aqua<sub>dest.</sub> lösen, 40 ml Acetonitril (Merck 1000302500) hinzugeben und mit ortho-Phosphorsäure (Merck 100573) auf pH 1,56 einstellen
- auf 1000 ml mit aqua<sub>dest.</sub> auffüllen und vor der Verwendung als mobile Phase filtrieren

TCA (10 %)

- 10 g TCA (Sigma 33731) in aqua<sub>dest.</sub> lösen, 37,2 mg Na<sub>2</sub>EDTA (Riedel-de Haën 27285) hinzugeben und auf 100 ml mit aqua<sub>dest.</sub> auffüllen

Natriumhydroxid (1,55 mol/l)

- 6,2 g NaOH (Sigma 06203) in 100 ml aqua<sub>dest.</sub> lösen

Boratpuffer (0,1 mol/l)

- 38,137 g di-Natriumtetraborat-Decahydrat (Riedel-de Haën 31457) in aqua<sub>dest.</sub> lösen, 744 mg Na<sub>2</sub>EDTA hinzugeben
- mit 1 N NaOH auf pH 9,5 einstellen und auf 1000 ml mit aqua<sub>dest.</sub> auffüllen

Boratpuffer (0,125 mol/l)

- 23,84 g di-Natriumtetraborat-Decahydrat (Riedel-de Haen 31457) in aqua<sub>dest.</sub> lösen, 745 mg Na<sub>2</sub>EDTA hinzugeben
- mit 1 N NaOH auf pH 9,5 einstellen und auf 500 ml mit aqua<sub>dest.</sub> auffüllen

Tri-n-Butylphosphin (10 %)

- 2,5 ml TBP (Aldrich T49484) in 25 ml Dimethylformamid (DMF) (Merck 1030341000) geben (unter Abzug arbeiten)

7-Fluorobenzofurazane-4-sulfonic acid Amonium salt (SBD-F)

- 1 mg SBD-F (Fluka 46640) in 1 ml 0,125 mol/l Boratpuffer lösen

**Durchführung**

150 µl der Plasmaprobe/des Standards wurden mit 15 µl TBP-F-Lösung versetzt, gevortext und 30 min im Kühlschrank (bei 4°C) inkubiert. Bei diesem Arbeitsschritt wurde das proteingebundene Homocystein freigesetzt und reduziert. Zur Proteinfällung wurden 150 µl TCA-Lösung hinzugefügt, gevortext und bei 3500 U/min für 10 min abzentrifugiert. 50 µl des Überstandes wurden mit 10 µl 1,55 mol/l NaOH, 125 µl 0,125 mol/l Boratpuffer und 50 µl SBD-Lösung versetzt und kräftig gevortext. Eine Inkubation bei 60°C für 1 h ermöglichte eine Derivatisierung von Homocystein und den anderen Plasmathiolen, diese wurde mittels Eisbad gestoppt. 20 µl der Lösung wurden in die HPLC injiziert und chromatographisch bis zur Detektionseinheit getrennt.

**Auswertung**

Die Integration der Peakflächen erfolgte mittels Softwareprogramm Labsolutions (Version 5.3). Die Berechnung der Konzentrationen wurde durch die externe Standardmethode über die Peakfläche ermittelt.

### 3.6.9 Bestimmung von Vitamin C im Plasma

#### Testprinzip

Die im Humanplasma nachweisbare Form des Vitamin C ist die Ascorbinsäure. Die Probenbestandteile des Plasmas wurden chromatographisch getrennt und das Vitamin C, also die Ascorbinsäure, durch einen UV-Detektor nachgewiesen.

#### Geräte

**Tab. 17: Geräte und Messbedingungen der Bestimmung von Vitamin C im Plasma**

<b>Geräte</b>	
Isokratische Pumpe	Schimadzu, LC-20AT
UV/VIS-Detektor	Schimadzu, SPD-20A
Autosampler	Schimadzu, SIL-20ACHT
Säulenofen	Schimadzu, CTO-10AC
Vorsäule und analytische Säule	ClinRep® Recipe Reversed Phase
Integrator und Auswertungssoftware	Labsolutions Version 5.3
<b>HPLC-Messbedingungen</b>	
Flussrate	1,3 ml/min
Druck	ca. 120 bar
Säulentemperatur	30°C
Injektionsvolumen	20 µl
Retentionszeiten	Vitamin C: ca. 2,2 min Interner Standard: ca. 4,1 min
Laufzeit	6 min
Wellenlänge	243 nm
Nachweisgrenze	0,1 mg/l

#### Reagenzien

Die Analyse erfolgte mit dem ClinRep® Testkit für Vitamin C im Plasma (Nr. 28000) der Firma Recipe Chemicals + Instruments GmbH, München, Deutschland.

#### Mobile Phase (Nr. 28010)

Reagenz P: Präzipitationsreagenz enthält internen Standard (Nr. 28012)

Kalibrator: ClinCal® Serum Kalibrator für Vitamin C (Nr. 28013)

#### Durchführung

100 µl der Plasmaprobe/Kalibrator/Kontrolle wurden mit 100 µl Präzipitationsreagenz P zur Proteinfällung hinzugefügt, 30 sec gevortext, 10 min bei 4°C inkubiert und anschließend 10 min bei 10000\*g zentrifugiert. 20 µl des Überstands wurden zur chromatographischen Trennung in die HPLC-Anlage injiziert.

## Auswertung

Die Auswertung der Konzentrationen an Ascorbinsäure erfolgte mit Hilfe der internen Standards (IS) über die Peakfläche mittels folgender Formeln:

Berechnung der Wiederfindungsrate (WF) des internen Standards:

$$WF = \frac{\text{Fläche}_{IS, \text{ Probe}}}{\text{Fläche}_{IS, \text{ Kalibrator}}}$$

Berechnung der Konzentration der Probe:

$$\text{Konz.}_{\text{Probe}} (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{Fläche}_{\text{Probe}} * \text{Konz.}_{\text{Kalibrator}}}{\text{Fläche}_{\text{Kalibrator}} * WF}$$

Zur Auswertung der Chromatogramme und der Integration der Peakflächen wurde die Software Labsolutions Version 5.3 verwendet.

## 3.6.10 Bestimmung von Kreatinin im Harn

### Testprinzip

Kreatinin wurde als Bezugsparameter für Vitamin B<sub>1</sub> und Vitamin B<sub>2</sub> im Spontanharn herangezogen und mittels Jaffè-Reaktion nach der Methode von BOEHRINGER und MANNHEIM [1991] bestimmt. Kreatinin bildet im alkalischen Milieu mit Pikrat einen rot-orangen Farbkomplex, welcher photometrisch bestimmt werden kann.

### Geräte

Photometer: Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer

### Reagenzien

#### Lösung 1

- 2 mg Standard Kreatinin (Fluka 27910) in 100 ml aqua<sub>dest.</sub>

#### Lösung 2

- 1,604 g Pikrinsäure (Merck 3017905) in 200 ml aqua<sub>dest.</sub>

#### Lösung 3

- 12,8 g NaOH (Riedel-de Haën 06203) in 100 ml aqua<sub>dest.</sub>

#### Lösung 4

- Lösung 2 und 3 im Verhältnis 1:1 mischen

## TCA

- 19,6 g TCA (Sigma 33731) in 100 ml aqua<sub>dest.</sub>

## Durchführung

Die Kreatininbestimmung erfolgte immer am jeweiligen Untersuchungstag. Die Harnproben wurde 1:50 (100 µl zu 4,9 ml) mit aqua<sub>dest.</sub> verdünnt und nachfolgendes Pipettierschema kam zu Anwendung:

**Tab. 18: Pipettierschema der Kreatininbestimmung im Harn [mod. nach Boehringer Mannheim, 1991]**

Reagenzien	Leerwert	Standard	Harnprobe
aqua <sub>dest.</sub>	500 µl	---	---
Lösung 1	---	500 µl	---
TCA	500 µl	500 µl	500 µl
Harn (1:50)	---	---	500 µl
Lösung 4	1 ml	1 ml	1 ml

Nach einer Inkubationszeit von 20 min bei 25°C wurden die Proben gegen den Leerwert am Spektralphotometer bei 520 nm gemessen.

## Auswertung

Die Konzentration von Kreatinin wurde wie folgt berechnet:

$$c \text{ [mg/dl]} = 100 * E_{\text{Probe}} / E_{\text{Standard}}$$

$$c \text{ [mmol/l]} = 8,84 E_{\text{Probe}} / E_{\text{Standard}}$$

### 3.6.11 Verwendete Chemikalien

C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N	Acetonitril (Merck 1000302500)
C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O	Kreatinin (Fluka 27910)
C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	L-Asparaginsäure (Merck 10026)
C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	2-Oxoglutarsäure (Merck 5194)
C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub> ·HCl	Triäthanolaminhydrochlorid (Merck 108357)
C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	Pikrinsäure (Merck 3017905)
DMF	Dimethylformamid (Merck 1030341000)
FAD	Flavine Adenine Dinucleodide (Sigma F6625)
GSSG	oxidiertes Glutathion (Sigma G4646)
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Schwefelsäure (95–97 %) (Fluka 84720)
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	ortho-Phosphorsäure (Merck 100573)
HCl	Salzsäure (Riedel-de Haën 30723)
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	di-Kaliumhydrogenphosphat (Riedel-de Haën 04248)
KCl	Kaliumchlorid (Riedel-de Haën 31248)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumdihydrogenphosphat (Riedel-de Haën 30407)
MDH	Malat-Dehydrogenase (Roche Diagnostics GmbH 11516032)
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	Magnesiumsulfat-7-hydrat (Riedel-de Haën 13142)
Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub>	Boratpuffer, di-Natriumtetraborat-Decahydrat (Riedel-de Haën 31457)
Na <sub>2</sub> EDTA	Etylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz-Dihydrat (Riedel-de Haën 27285)
NaCl	Natriumchlorid (Sigma 71380)
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid (Roche Diagnostics GmbH 10128023001)
NADPH <sub>2</sub>	Nicotinamidadenindinucleotidphosphate, Tetranatriumsalz (Biochemika 93229)
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogencarbonat (Fluka 71628)
NaOH	Natriumhydroxid (Riedel-de Haën 06203)

PLP	Pyridoxal-5-Phosphat (Sigma 9255)
R-5-P	Ribose-5-Phosphat (Sigma R7750)
Saponin	Saponin (Sigma 84510)
SBD-F	7-Fluorobenzofurazane-4-sulfonic acid ammonium salt (Fluka 46640)
TBP	Tri-n-Butylphosphin (Aldrich T49484)
TCA	Trichloressigsäure (Sigma 33731)
TPP Chlorid	Cocarboxylase (Sigma 8754)

### 3.7 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte durch das Statistikprogramm SPSS 19.0 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Incorp., Chicago, USA) für Windows.

Aufgrund möglicher Verzerrungen aus der Stichprobenrekrutierung wurden die Fälle gewichtet und somit reharmonisiert. Durch dieses statistische Verfahren wurde das Stichprobenprofil an die Grundgesamtheit (österreichische Bevölkerung) angenähert, sodass den einzelnen Fällen entsprechende Gewichtungsfaktoren zugewiesen wurden, welche der Bevölkerungsstruktur der österreichischen Standardbevölkerung im ersten Quartal 2011 [Statistik Austria, 2011] in Bezug auf Geschlecht, Alter (in 5-Jahresgruppen) und geografische Region entsprachen.

Zur deskriptiven Beschreibung der Daten erfolgte die Darstellung durch den Mittelwert und die Standardabweichung. Der Mittelwert ist das arithmetische Mittel der Messwerte und wird aus der Summe der Messwerte geteilt durch ihre Anzahl berechnet. Die Standardabweichung ist ein Maß für die Streuung der Messwerte und wird aus der Quadratwurzel der Varianz berechnet. Wird die Standardabweichung auf beiden Seiten des Mittelwerts aufgetragen, so liegen bei normalverteilten Daten ca. 67 % der Messwerte in diesem Intervall. Aufgrund der meist nicht normalverteilten Daten wurde die Darstellung der Ergebnisse durch den Median und die Interquartilerange (IQR) ergänzt. Der Median ist derjenige Wert, unterhalb und oberhalb dessen jeweils die Hälfte der Messwerte liegt. Die Interquartilrange beinhaltet das 1. und 3. Quartil (Q1 und Q3) und beschreibt jene Grenze, unterhalb der 25 % bzw. 75 % der Messwerte liegen. Auf Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test und durch die grafische Darstellung eines Histogramms geprüft [BÜHL, 2012].

Bei normalverteilten metrischen Variablen kamen parametrische Tests zum Einsatz. Mittelwertvergleiche von zwei unabhängigen Stichproben wurden mittels T-Test

angestellt, bei einem Vergleich von mehr als zwei unabhängigen Stichproben wurde vorab auf Varianzenhomogenität geprüft (Levene-Test) und anschließend die einfaktorielle ANOVA angewandt. Bei einem signifikanten Ergebnis der einfaktoriellen ANOVA wurde bei homogenen Varianzen der Tukey-Test und bei nicht homogenen Varianzen der Games-Howell-Test zum Gruppenvergleich herangezogen [FIELD, 2005]. (Statistische Angaben: t-Test: T-Statistik, Z-Wert, p-Wert, Mittelwerte, Standardabweichung sofern nicht in der Tabelle dargestellt. Einfaktorielle ANOVA: F-Statistik, Freiheitsgrade, p-Wert; mit Post-hoc Tukey-Test oder Games-Howell-Test: p-Wert, Mittelwerte, Standardabweichung sofern nicht in der Tabelle dargestellt [FIELD, 2005]).

Nicht-parametrische Tests kamen bei ordinalskalierten oder nicht normalverteilten metrischen Variablen zum Einsatz. Für Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurde entsprechend der Fragestellung bei nicht abhängigen Variablen der Mann-Whitney-Test (U-Test) durchgeführt. Bei einem Vergleich von mehr als zwei unabhängigen Stichproben wurde der Kruskal-Wallis-Test eingesetzt. Um Unterschiede mehrerer Gruppen definieren zu können, wurden bei einem signifikanten Kruskal-Wallis-Ergebnis post-hoc-Vergleiche mittels U-Test und einer Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Durch eine Bonferroni-Korrektur wird die Wahrscheinlichkeit einer Kumulation von  $\alpha$ -Fehlern bei multiplen Paarvergleichen neutralisiert, das Signifikanzniveau wurde z.B. bei einem Vergleich von drei Paarvergleichen um ein Drittel, also von 0,05 auf  $0,05/3=0,017$ , verringert und dementsprechend mit  $p<0,017$  angegeben [FIELD, 2005]. (Statistische Angaben: Mann-Whitney-U-Test: U-Statistik, Z-Wert, p-Wert, Median, Q1 und Q3 sofern nicht in der Tabelle dargestellt. Kruskal-Wallis-Test: H-Statistik, Freiheitsgrade, p-Wert; mit Post-hoc Mann-Whitney-U-Test: U-Statistik, Z-Wert, p-Wert nach einer Bonferroni-Korrektur, Median, Q1 und Q3 sofern nicht in der Tabelle dargestellt [FIELD, 2005]).

Korrelationen wurden zur Darstellung eines Zusammenhangs von zwei Variablen angewandt. Um das bivariate Zusammenhangsmaß der Wertepaare darzustellen,

wurde bei normalverteilten Datensätzen der Korrelationskoeffizient nach Pearson und bei nicht normalverteilten Daten der Korrelationskoeffizient nach Spearman berechnet. Lag der Korrelationskoeffizient nahe bei 1, wurde von einem starken Zusammenhang, lag er nahe bei 0, von einem schwachen Zusammenhang gesprochen [BÜHL, 2012].

(Statistische Angaben: Korrelationskoeffizient nach Person ( $r_p$ ) oder Korrelationskoeffizient nach Spearman ( $r_s$ ), p-Wert [FIELD, 2005]).

Betrug die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p < 0,05$ , so wurde in der nachfolgenden Auswertung von signifikant gesprochen, bei  $p < 0,01$  von hoch signifikant und bei  $p < 0,001$  von höchst signifikant. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde zusammen mit den statistischen Kenngrößen der angewandten Tests bei den Ergebnissen angegeben [FIELD, 2005].

## **4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION**

### **4.1 ALLGEMEINE MERKMALE DER STICHPROBE**

#### **4.1.1 Alter und Geschlecht**

Die Einteilung der Stichprobe erfolgte in drei Bevölkerungsgruppen: Kinder (7–14 Jahre), Erwachsene (18–64 Jahre) und Senioren (65–80 Jahre). Das durchschnittliche Alter der Kinder betrug  $10,4 \pm 2,2$  Jahre, das der Erwachsenen  $40,1 \pm 13,0$  Jahre und das der Senioren  $73,0 \pm 4,0$  Jahre. Tab. 19 stellt eine Übersicht der Geschlechterverteilung in den Altersgruppen dar. Insgesamt nahmen mehr Frauen bei den Erwachsenen und Senioren an den Untersuchungen teil, wohingegen Buben bei den Kindern überrepräsentiert waren.

**Tab. 19: Geschlechterverteilung der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen**

	Kinder (7–14 Jahre)	Erwachsene (18–64 Jahre)	Senioren (65–80 Jahre)
<b>Gesamt n</b>	387	419	196
<b>Weiblich n (%)</b>	188 (48,6)	251 (59,9)	112 (57,1)
<b>Männlich n (%)</b>	199 (51,4)	168 (40,1)	84 (42,9)

#### **4.1.2 Bildungsniveau, Berufsgruppen, Familienstand und Wohngebiet**

Die soziodemografischen Daten des untersuchten Studienkollektivs (Bildungsniveau, Berufsgruppe, Familienstand und Wohngebiet) sind in Tab. 20 zusammengefasst.

Auffallend war, dass die meisten Studienteilnehmer ein mittleres Bildungsniveau (Berufsschule, berufsbildenden mittleren Schule, berufsbildenden höheren Schule oder AHS-Oberstufe) aufwiesen. Circa ein Drittel der Erwachsenen waren Akademiker mit einem FH- oder Universitätsabschluss, wohingegen nur 12 % der Senioren einen derartigen Abschluss aufweisen konnten.

Ersichtlich wurde, dass die meisten Senioren nicht mehr erwerbstätig waren, lediglich 1 % der Senioren gab an, in einem Dienstverhältnis zu stehen. Auch die Altersgruppe der Erwachsenen hatte einen relativ hohen Anteil an Nicht-Erwerbstätigen, mit ca. einem Viertel. Dies erklärt sich durch die hohe Anzahl der Studenten in der Ernährungsstudie. Der Großteil der Erwachsenen (fast 40 %) gab an, Unternehmer, Angestellter oder Beamter zu sein, nur 12 % waren Arbeiter.

**Tab. 20: Bildungsniveau, Berufsgruppen, Familienstand und Wohngebiet der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen**

	Erwachsene (18–64 Jahre) n=419	Senioren (65–80 Jahre) n=196
<b>Bildungsniveau</b>		
niedrig (%)	5	10
mittel (%)	61	71
hoch (%)	28	12
k. A. (%)	6	7
<b>Berufsgruppen</b>		
Unternehmer, Angestellte, Beamte (%)	38	1
Arbeiter (%)	12	0
Nicht-Erwerbstätige (%)	23	43
k. A. (%)	27	56
<b>Familienstand</b>		
ledig (%)	25	2
getrennt lebend/geschieden/verwitwet (%)	7	20
verheiratet/Lebensgemeinschaft (%)	43	24
k. A. (%)	25	54
<b>Wohngebiet</b>		
Stadt (%)	31	33
Stadtumgebung (%)	12	5
Land (%)	33	8
k. A. (%)	24	54

Im Studienkollektiv der Erwachsenen und Senioren war der am häufigsten vertretene Familienstand „verheiratet/Lebensgemeinschaft“, 40 % der Erwachsenen und 24 % der Senioren lebten somit nicht alleine. Nur 2 % der Senioren waren ledig, wohingegen bei den Erwachsenen ein Viertel der Studienteilnehmer angab, ledig zu sein. Umgekehrt waren bis zu einem Fünftel der Senioren „geschieden/getrennt lebend/verwitwet“, aber nur 7 % der Erwachsenen.

Eine ausgeglichene Verteilung zwischen dem Wohngebiet „Stadt“ und „Land“ zeigte sich bei den Erwachsenen. Ein Drittel gab an, in einer Stadt, ein weiteres Drittel, am Land zu leben, 12 % wohnten in stadtnahen Gebieten. Senioren, welche an der Studie teilnahmen, waren eher in den Städten zu finden (ein Drittel), wohingegen nur 8 % am Land lebten und nur 5 % in der Stadtumgebung.

#### 4.1.5 Body Mass Index (BMI)

Kinder hatten einen durchschnittlichen BMI von  $19,1 \pm 3,8 \text{ kg/m}^2$ , Erwachsene von  $24,9 \pm 4,2 \text{ kg/m}^2$  und Senioren von  $28,4 \pm 4,5 \text{ kg/m}^2$ . Die Klassifikation des BMI erfolgte nach den WHO-Kriterien für Erwachsene und Senioren [WHO, 2004, NRC, 1989]. Für Kinder wurden alters- und geschlechtsspezifische Perzentilwerte als Cut-Off-Punkte aus Untersuchungen in Deutschland herangezogen [KROMEYER-HAUSCHILD et al., 2001].

**Tab. 21: BMI-Klassifikation der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen**

BMI	Kinder (7–14 Jahre) n=386	Erwachsene (18–64 Jahre) n=313	Senioren (65–80 Jahre) n=194
Untergewichtig (%)	3,8	2,1	16,6
Normalgewichtig (%)	72,2	58,1	50,5
Übergewichtig (%)	16,7	27,6	32,9 <sup>1</sup>
Adipös (%)	7,3	12,2	

<sup>1</sup>Eine Differenzierung zwischen Übergewicht und Adipositas kann für Senioren nicht getroffen werden

Obwohl der Großteil der untersuchten Personen normalgewichtig war, lag die Prävalenz übergewichtiger Kinder bei 17 % und bei über einem Viertel der Erwachsenen und einem Drittel der Senioren. 7 % der Kinder und sogar 12 % der Erwachsenen wurden als adipös eingestuft. Untergewichtige Kinder und Erwachsene nahmen kaum an der Studie teil (2–4 %), untergewichtige Senioren weitaus häufiger (17 %).

## 4.2 VERSORGUNGSSITUATION DER WASSERLÖSLICHEN VITAMINE BEI ÖSTERREICHISCHEN KINDER, ERWACHSENEN UND SENIOREN

Die Auswertungen des Status der wasserlöslichen Vitamine erfolgten getrennt für jede Bevölkerungsgruppe und Geschlecht. Die für die Beurteilung herangezogenen Referenzwerte des VP und FP sind in Tab. 7 im Kapitel 2.6.1 zusammengefasst.

### 4.2.1 Vitamin B<sub>1</sub>-Versorgung

Die Versorgung mit Vitamin B<sub>1</sub> wurde durch die Thiaminausscheidung über den Harn als VP und die Aktivierbarkeit der Transketolase in den Erythrozyten als FP beurteilt. Die Thiaminausscheidung spiegelt die kurzfristige Versorgungssituation wider [TASEVSKA et al., 2008], wohingegen die Aktivierbarkeit der Transketolase nur längerfristig beeinflusst wird [GIBSON, 2005].

Die kurzfristige Thiaminversorgung variierte zwischen den Altersgruppen ( $H(2)=254$ ;  $p<0,001$ ): Kinder hatten mit 116 nmol/mmol signifikant höhere Thiaminmengen im Harn als Erwachsene (46 nmol/mmol,  $U=33227$ ,  $Z=-15,7$   $p<0,017$ ) und Senioren (51 nmol/mmol,  $U=21615$ ,  $Z=-9,4$ ,  $p<0,017$ ), wohingegen die Ausscheidungsmengen der Erwachsenen und Senioren ähnlich hoch ausfielen. Geschlechtsspezifische Differenzen konnten nur bei den Erwachsenen, nicht aber bei den Kindern oder den Senioren identifiziert werden. Frauen hatten eine höhere durchschnittliche Thiaminausscheidung von 50 nmol/mmol als Männer mit 43 nmol/mmol ( $U=20323$ ,  $Z=-2,5$ ,  $p<0,05$ ), der Referenzbereich für eine optimal Bedarfsdeckung (>22 nmol/mmol) wurde jedoch von beiden erreicht.

Kreatinin wurde als Bezugssubstanz für die Thiaminausscheidung in Spontanharnproben herangezogen, da es, durch die enge Korrelation mit der Muskelmasse konstant vom Körper abgegeben wird [HEYMSFIELD et al., 1983]. Kinder haben weniger Muskelmasse als Erwachsene und Frauen weniger als Männer [HABER, 2009], ihre kreatininbezogenen Messwerte erhöhen sich demnach. Ein Vergleich zwischen den Altersgruppen und den Geschlechtern scheint ungeeignet, um tatsächliche Unterschiede in der Versorgungssituation feststellen zu können. Die Bestimmung des

Thiamingehalts in 24h-Harnproben erfordert keine zusätzliche Bezugssubstanz, allerdings ist die Belastung der Studienteilnehmer deutlich erhöht und die Compliance der Probanden gering [GIBSON, 2005]. Aus diesem Grund wurde in den aktuellen Erhebungen darauf verzichtet, da auch die zusätzliche Bestimmung des FP aussagekräftige Ergebnisse lieferte.

Der Aktivierungskoeffizient der Transketolase in den Erythrozyten bestätigt eine weitgehend einheitliche längerfristige Thiaminversorgung der Altersgruppen und der Geschlechter. Kindern hatten mit einem durchschnittlichen α-ETK von 1,16 ähnliche Werte wie Erwachsene (1,17) und Senioren (1,17). Die längerfristige Vitamin B<sub>1</sub>-Versorgung schien für Buben und Mädchen sowie Männer und Frauen ähnlich gut zu sein, da geschlechtsspezifische Unterschiede weder bei Kindern, Erwachsenen noch Senioren statistisch nachweisbar waren.

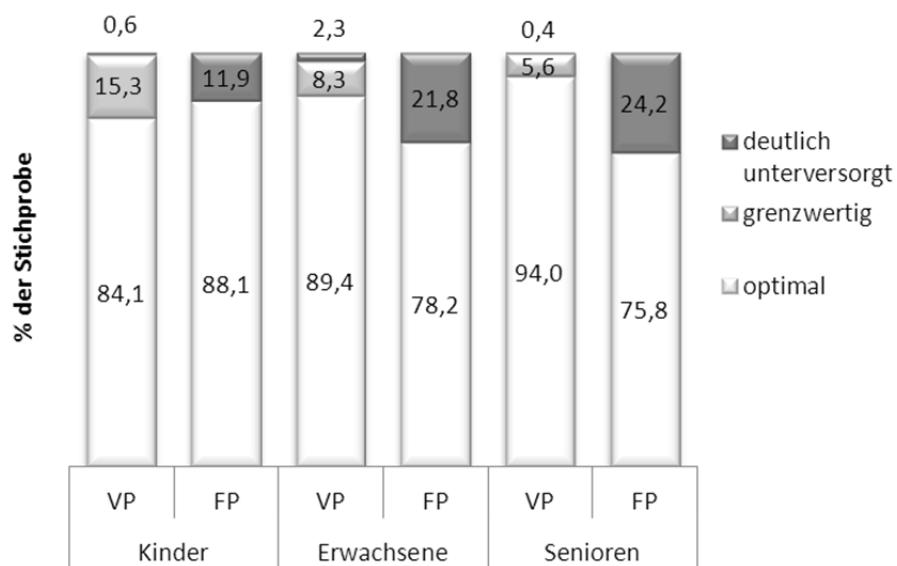
**Tab. 22: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Thiaminaufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht**

	Kinder (7–14 Jahre)		Erwachsene (18–64 Jahre)		Senioren (65–80 Jahre)	
	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert	Median (IQR)
	± SD		± SD		± SD	
<b>Versorgungsparameter (nmol Thiamin/mmol Kreatinin)</b>						
<b>gesamt</b>	163 ± 202	116 (75; 176)	71 ± 126	46 (30; 73)	127 ± 203	51 (33; 100)
<b>weiblich</b>	156 ± 207	112 (73; 174)	80 ± 142	50 (31; 80)	133 ± 207	64 (42; 116)
<b>männlich</b>	170 ± 199	118 (76; 177)	63 ± 108	43 (30; 62)	121 ± 200	44 (29; 83)
<b>Funktionsparameter (α-ETK)</b>						
<b>gesamt</b>	1,16 ± 0,08	1,16 (1,10; 1,21)	1,18 ± 0,11	1,17 (1,10; 1,24)	1,19 ± 0,12	1,17 (1,10; 1,25)
<b>weiblich</b>	1,16 ± 0,08	1,17 (1,11; 1,21)	1,18 ± 0,12	1,16 (1,10; 1,25)	1,20 ± 0,13	1,17 (1,10; 1,24)
<b>männlich</b>	1,16 ± 0,09	1,15 (1,10; 1,20)	1,18 ± 0,10	1,17 (1,11; 1,23)	1,19 ± 0,11	1,16 (1,11; 1,28)
<b>Thiaminaufnahme (mg/d)</b>						
<b>gesamt</b>	1,1 ± 0,4	1,0 (0,8; 1,3)	1,2 ± 0,5	1,1 (0,9; 1,4)	1,1 ± 0,7	1,0 (0,7; 1,3)
<b>weiblich</b>	1,0 ± 0,3	1,0 (0,8; 1,2)	1,1 ± 0,4	1,0 (0,8; 1,3)	1,0 ± 0,4	0,9 (0,7; 1,3)
<b>männlich</b>	1,1 ± 0,4	1,1 (0,9; 1,3)	1,3 ± 0,5	1,2 (0,9; 1,6)	1,1 ± 0,4	1,0 (0,8; 1,4)

Die Vitamin B<sub>1</sub>-Aufnahme unterschied sich zwischen den Altersgruppen, wenngleich statistisch signifikant ( $H(2)=19$ ,  $p<0,001$ ), nur geringfügig. Kinder und Senioren nahmen mit 1,0 mg/d signifikant ( $U=69025$ ,  $Z=-3,5$ ,  $p<0,017$  bzw.  $U=36109$ ,  $Z=-3,7$ ,  $p<0,017$ )

weniger auf als Erwachsene mit 1,1 mg/d. Obwohl die Biomarker keine wesentlichen geschlechtsspezifischen Merkmale aufzeigten, hatten Mädchen mit einer Zufuhr von 1,0 mg/d eine signifikant ( $U=15364$ ,  $Z=-4$ ,  $p<0,01$ ) niedrigere Thiaminaufnahme als Buben mit 1,1 mg/d, Frauen mit 1,0 mg/d eine signifikant ( $U=16396$ ,  $Z=-3,2$ ,  $p<0,01$ ) niedrigere Aufnahme als Männer mit 1,2 mg/d. Diese Unterschiede ergaben sich aus dem Energieumsatz des Studienkollektivs, der bei den männlichen Probanden höher war. Somit benötigten sie auch eine größere Menge Thiamin, um ihren Bedarf zu decken [ELMADFA et al., 2012]. Die Aufnahmedaten der Senioren zeigten keine geschlechtsspezifischen Verzehrmuster auf.

Der Vitamin B<sub>1</sub>-Status konnte anhand von VP und FP wie folgt beurteilt werden:



**Abb. 9: Die Bewertung des Vitamin B<sub>1</sub>-Status der Kinder (n=346/366), Erwachsenen (n=412/415) und Senioren (n=165/193) anhand der Thiaminausscheidung über den Harn (VP) und der Aktivierbarkeit der Transketolase in den Erythrozyten (FP)**

Die kurzfristige Thiaminversorgung war bei 84—94 % der untersuchten Personen ausreichend und nur in einzelnen Fällen (0,4—2,3 %) konnte eine deutliche Unterversorgung mit einer Thiaminausscheidung <9 nmol/mmol für Erwachsene und Senioren bzw. <20 nmol/mmol für Kinder festgestellt werden. Grenzwertige Befunde

hatten 6–15 % der Probanden, mit Thiaminauscheidungen zwischen 9–22 bzw. 20–60 nmol/mmol für die jeweilige Altersgruppe.

76–88 % der untersuchten Personen waren längerfristig ausreichend mit Thiamin versorgt, 12–24 % hatten ein hohes Risiko eines Vitamin B<sub>1</sub>-Defizits. Aufgrund der Methodik wurde der Grenzbereich zwischen 1,15–1,25 in Verbindung mit der Thiaminausscheidung beurteilt und in Anlehnung an die Literatur [MAJCHRZAK et al., 2006] ein Referenzwert für eine optimale Bedarfsdeckung mit einem α-ETK von <1,25 festgelegt.

Durch eine Beurteilung anhand von VP und FP konnte bei 84–88 % der Kinder, 78–89 % der Erwachsenen und 76–94 % der Senioren der Thiaminstatus als normal und optimal beurteilt werden. Die längerfristige Versorgungssituation könnte durch eine vermehrte Thiaminaufnahme verbessert werden. Klinische Symptome eines Mangels sind jedoch bei den Laborbefunden höchstens in Einzelfällen zu erwarten.

Jene Studienteilnehmer, welche einen optimalen Thiaminstatus aufwiesen, nahmen die in Tab. 23 angeführten Thiaminmengen auf. Ersichtlich wurde, dass weibliche Probanden im Vergleich zu den männlichen (außer bei den Senioren) geringere Mengen Thiamin benötigten, um ihren Bedarf zu decken. Kinder wiesen mit einer durchschnittlichen Aufnahme von 1,0 mg/d einen optimalen Thiaminstatus auf und waren somit an der unteren Grenze der empfohlenen Zufuhrmenge von 1,0–1,4 mg/d [D-A-CH, 2012]. Unter Berücksichtigung der altersentsprechenden Empfehlungen scheinen die Referenzwerte für Kinder zwischen 7–14 Jahren in ihrer Menge angemessen, um den Nährstoffbedarf von fast allen untersuchten Kindern zu decken.

**Tab. 23: Vitamin B<sub>1</sub>-Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin B<sub>1</sub>-Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht**

Statusindikatoren	Mediane der Vitamin B <sub>1</sub> -Aufnahme (mg/d) <sup>1</sup>		
	Kinder (w; m)	Erwachsene (w; m)	Senioren (w; m)
Thiamin >60 bzw. >22 nmol/mmol	1,03 (0,95; 1,09)	1,11 (1,07; 1,26)	1,06 (1,00; 1,22)
α-ETK <1,25	1,03 (0,97; 1,08)	1,14 (1,07; 1,26)	1,03 (1,05; 0,87)

<sup>1</sup> Personen, welche angaben, Vitaminsupplemente einzunehmen, wurden bei dieser Auswertung ausgeschlossen  
w...weiblich, m...männlich

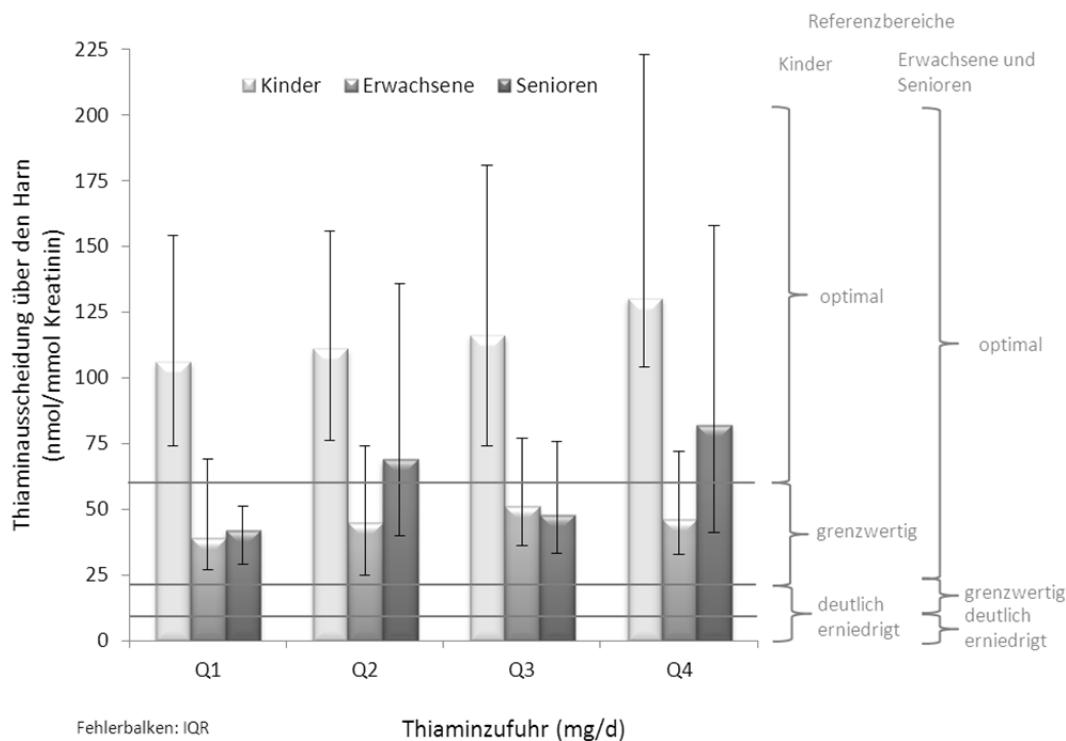
Die Zufuhrmengen der Erwachsenen, welche im untersuchten Studienkollektiv zu einer ausreichenden Bedarfsdeckung führten, lagen bei rund 1,1 mg/d für Frauen und 1,3 mg/d für Männer. Jene Aufnahmemenge entsprach den Empfehlungen (Frauen: 1,0 mg/d, Männer: 1,1–1,3 mg/d) [D-A-CH, 2012]. Der Thiaminbedarf hängt wiederum vom Energieumsatz [ELMADFA et al., 2001] sowie von vielen Lebensstilfaktoren wie z. B. dem Alkoholkonsum [SAID, 2011] ab und kann daher trotz einer den Empfehlungen entsprechenden Thiaminaufnahme nicht immer gedeckt werden. Obwohl die Laborbefunde der Erwachsenen großteils eine optimale Nährstoffversorgung im Studienkollektiv aufzeigten, sollte die längerfristige Thiaminversorgung bei einzelnen untersuchten Personen ähnlich derer der Kinder verbessert werden.

Optimal versorgte Senioren hatten im Mittel eine tägliche Thiaminaufnahme von 1,0–1,1 mg. Diese Aufnahmemenge liegt geringfügig unter den altersentsprechenden Empfehlungen von 1,1 mg/d für Senioren [D-A-CH, 2012] und scheint somit auszureichen, um den Nährstoffbedarf zu decken.

Abb. 10 und Abb. 11 zeigen die Ergebnisse der Biomarker in Bezug zur Thiaminaufnahme bei unterschiedlichen Zufuhrmengen. Die Einteilung der Thiaminzufuhr wurde anhand der Quartilen (Q1, Q2, Q3 und Q4) der jeweiligen Altersgruppen gewählt.

Ersichtlich wurde, dass, wie zuvor erörtert, Kinder im Vergleich zu Erwachsenen bzw. Senioren trotz einer geringeren oder in ihrer Menge gleichwertigen Thiaminaufnahme eine deutlich höhere Thiaminausscheidung über den Harn aufwiesen, bedingt durch die kreatininbezogenen Messwerte und ihre zugrundeliegende Korrelation mit der Muskelmasse [HEYMSFIELD et al., 1983]. Die Menge der Thiaminausscheidung stieg wiederum bei einer Aufnahme von weniger als 0,8 mg/d (Q1) auf über 1,3 mg/d (Q4) an und zeigte eine signifikante ( $H(3)=8,9$ ,  $p<0,05$ ) Auswirkung der Thiaminzufuhr auf den VP. Statistisch signifikante Unterschiede konnten allerdings nur zwischen Q1 und Q4 ( $U=3534$ ,  $Z=-3$ ,  $p<0,008$ ) mit einer Thiaminkonzentration im Harn von 106 und 130 nmol/mmol festgestellt werden. Der VP der Erwachsenen und Senioren war im Mittel, auch bei einer unter den Empfehlungen liegenden Thiaminaufnahme im Q1

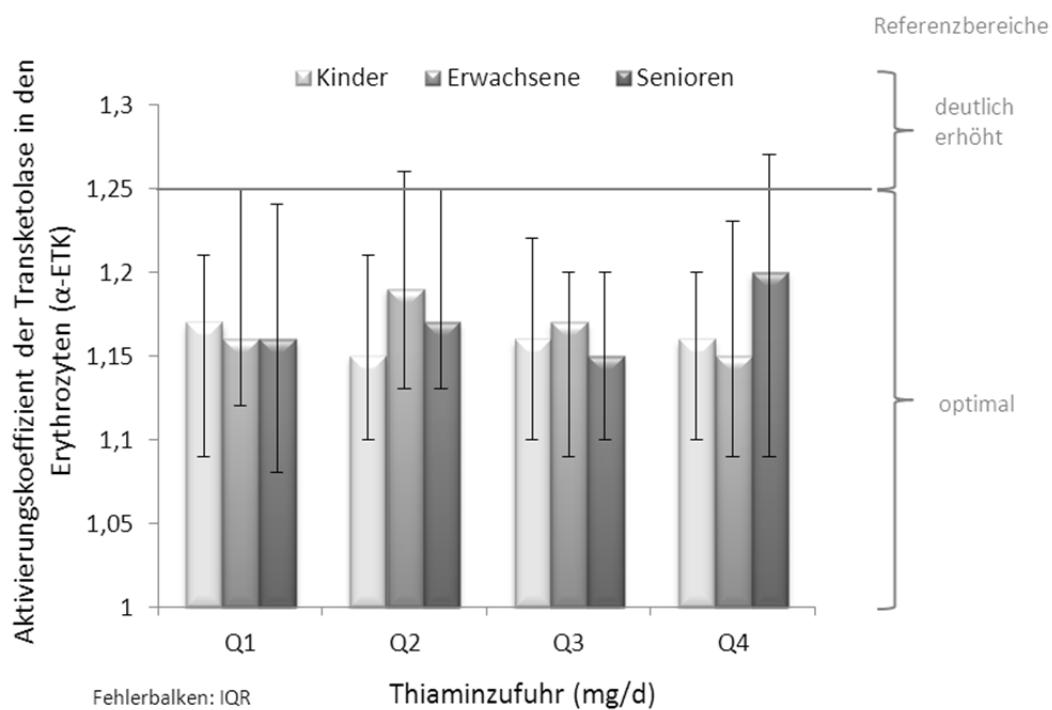
(Erwachsene <0,9 mg/d und Senioren <0,7 mg/d), über dem für eine ausreichende Thiaminversorgung liegenden Referenzwert von 22 nmol/mmol und zeigte keine erhöhte Prävalenz niedriger Messwerte. Die Auswirkung der Thiaminaufnahme auf die Thiaminausscheidung erwies sich bei den Senioren, nicht aber bei den Erwachsenen, als signifikant ( $H(3)=20$ ,  $p<0,001$ ). Ein positiver Trend war jedoch bei beiden ersichtlich.



**Abb. 10: Thiaminausscheidung über den Harn in Bezug zur Thiaminzufuhr der Quartilen der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Thiaminzufuhrmengen der Quartilen (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <0,8; 0,9-1,0; 1,1-1,3; >1,3 mg/d, für Erwachsene <0,9; 0,9-1,1; 1,2-1,4; >1,4 mg/d und für Senioren <0,7; 0,7-1,0; 1,1-1,3; >1,3 mg/d.

Der Zusammenhang der Thiaminaufnahme und der Thiaminausscheidung über den Harn konnte auch von Tasevska et. al [2008] bestätigt werden und gilt daher als zuverlässiger Biomarker, um den Thiaminstatus zu beurteilen. Weitere Untersuchungen bestätigten, dass bei einer schrittweisen Erhöhung der Thiaminaufnahme die Ausscheidungsmenge dosisabhängig anstieg [ITOKAWA et al., 1992] und die Thiaminausscheidung mit der Thiaminaufnahme korrelierte [TSUJI et al., 2010]. Der VP ist dementsprechend geeignet, die aufgenommene Thiaminmenge in dem untersuchten Zeitraum darzustellen.

Die Ergebnisse des Funktionsparameters in Bezug zur Thiaminaufnahme sind weniger eindeutig. Eine ungünstig erhöhte Aktivitätsstimulierung der Transketolase kann bei den Quartilen der Thiaminaufnahme nicht eindeutig beobachtet werden (siehe Abb. 11). Die Mediane des  $\alpha$ -ETK der Kinder (1,16), Erwachsenen (1,17) und Senioren (1,17) lagen im Normbereich (<1,25), waren jedoch bei unterschiedlichen Aufnahmemengen kaum verändert.



**Abb. 11: Aktivierungskoeffizient der Transketolase in den Erythrozyten ( $\alpha$ -ETK) in Bezug zur Thiaminzufuhr der Quartile der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Thiaminzufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <0,8; 0,9-1,0; 1,1-1,3; >1,3 mg/d, für Erwachsene <0,9; 0,9-1,1; 1,2-1,4; >1,4 mg/d und für Senioren <0,7; 0,7-1,0; 1,1-1,3; >1,3 mg/d.

Die Nährstoffaufnahme, erfasst durch 24h-Recalls oder 3-Tages-Schätzprotokolle, erwies sich somit als ungeeignet, die längerfristige Thiaminaufnahme festzuhalten. Ein FFQ, welcher die üblichen Verzehrsgewohnheiten erfasst [ELMADFA und LEITZMANN, 2004], wäre bei dieser Gegenüberstellung eventuell sinnvoller gewesen. Deutlich wurde, dass die Werte des  $\alpha$ -ETK durch kurzfristige Fluktuationen in der

Thiaminaufnahme wenig beeinflusst wurden und daher aussagekräftige Ergebnisse über den Status an Thiamin zulassen [GIBSON, 2005].

Die Thiaminausscheidung über den Harn wurde durch vorhergehende Erhebungen in Österreich lediglich an Kindern und Senioren gemessen, 1998 hatten 4–11 % der Kinder und 3 % der Senioren einen ungünstigen Thiaminstatus [ELMADFA et al., 1998]. Demgegenüber zeigten die vorliegenden Daten eine deutliche Statusverbesserung, da nur mehr 0,6 % der Kinder (<20 nmol/mmol) und 0,4 % der Senioren (<9 nmol/mmol) unversorgt waren. Vergleichbare Ergebnisse für Erwachsenen liegen in Österreich nicht vor. Daten aus Deutschland dokumentieren bei 5,7 % der untersuchten Personen eine inadäquate Versorgungssituation [HESEKER et al., 1992]. Sie schienen etwas schlechter mit Thiamin versorgt zu sein als die österreichischen Erwachsenen in dem vorliegenden Studienkollektiv mit einer Prävalenz von 2,3 %. Vergleichswerte des FP durch die Messung des  $\alpha$ -ETK liegen in Österreich bis dato nicht vor. Untersuchungen in Deutschland zeigten mangelhafte Versorgungen ( $\alpha$ -ETK<1,20) bei 4 % der untersuchten Erwachsenen, wohingegen in der aktuellen Studie eine ungünstig erhöhte Aktivitätsstimulierung der Transketolase bei 22 % der Erwachsenen nachgewiesen werden konnte. Unterschiede der Methodik und der damit verbundenen Referenzwerte lassen Vergleiche des FP nur bedingt zu.

Fazit: Der Thiaminstatus, bewertet durch VP und FP, war bei 83–88 % der Kinder, 78–79 % der Erwachsenen und 76–94 % der Senioren optimal. Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten durch die gemeinsame Betrachtung beider Biomarker nicht identifiziert werden. Allerdings war die Thiaminaufnahme der weiblichen Probanden im Vergleich zu den männlichen sowohl bei den Kindern als auch bei den Erwachsenen geringer. Die altersentsprechenden Zufuhrempfehlungen [D-A-CH, 2012] wurden im Mittel erreicht oder leicht unterschritten und sind in ihrer Menge ausreichend, um den Thiaminbedarf der Bevölkerungsgruppen zu decken. Die längerfristige Thiaminversorgung der untersuchten Personen sollte jedoch beachtet werden, wobei klinische Symptome eines Mangels bei den vorliegenden Befunden nicht zu erwarten sind.

## 4.2.2 Vitamin B<sub>2</sub>-Versorgung

Die Riboflavinversorgung wurde anhand der Riboflavinausscheidung über den Harn als VP und der Stimulierung des Vitamin B<sub>2</sub>-abhängigen Enzyms, der Glutathionreduktase, in den Erythrozyten als FP beurteilt. Bei Vorliegen einer unzureichenden Riboflavinversorgung konnten eine geringe Riboflavinausscheidung [FUKUWATARI und SHIBATA, 2008] und eine hohe Stimulierung der Glutathionreduktase nachgewiesen werden [HOEY et al., 2009]. Tab. 24 fasst die Ergebnisse des Status und der Aufnahme durch die Darstellung der Mittelwerte ( $\pm$  SD) und Mediane (IQR) für Kinder, Erwachsene und Senioren zusammen.

Der VP von Vitamin B<sub>2</sub> zeigte ähnlich wie bei Vitamin B<sub>1</sub>, dass die Riboflavinausscheidung unter den Altersgruppen deutlich variierte ( $H(2)=143$ ,  $p<0,001$ ). Kinder und Senioren hatten mit 180 bzw. 110 nmol/mmol eine signifikant ( $U=47415$ ,  $Z=-12$ ,  $p<0,017$  bzw.  $U=37213$ ,  $Z=-3$ ,  $p<0,017$ ) höhere Riboflavinausscheidung als Erwachsene mit 83 nmol/mmol. Signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede konnten nur bei Erwachsenen ( $U=18853$ ,  $Z=-4$ ,  $p<0,001$ ), nicht aber bei Kindern oder Senioren identifiziert werden. Frauen hatten mit 95 nmol/mmol eine höhere Riboflavinausscheidung als Männer mit 74 nmol/mmol. Dieser Vergleich lässt, wie zuvor beschrieben, keine Aussagen über einen besseren Riboflavinstatus der Kinder oder Frauen zu, da die kreatininbezogenen Messwerte [HEYMSFIELD et al., 1983] grundlegend für die alters- und geschlechtsspezifischen Differenzen sind. Es unterstreicht vielmehr das Fehlen alters- und geschlechtsspezifischer Referenzwerte und erschwert die Interpretation des Riboflavinstatus für diese Bevölkerungsgruppen, da etablierte Vergleichswerte der Erwachsenen herangezogen werden müssen [MAJCHRZAK et al., 2006].

Eine altersbedingte Veränderung der Versorgungssituation zwischen Kindern, Erwachsenen und Senioren konnte anhand des  $\alpha$ -EGR aufgezeigt werden ( $H(2)=42$ ,  $p<0,001$ ). Senioren hatten mit einem  $\alpha$ -EGR von 1,20 die beste längerfristige Versorgung im Vergleich zu Kindern mit 1,27 ( $U=36998$ ,  $Z=-6$ ,  $p<0,017$ ) und Erwachsenen mit 1,26 ( $U=37488$ ,  $Z=-6$ ,  $p<0,017$ ). Hierbei wiesen Mädchen mit einem

$\alpha$ -EGR von 1,30 signifikant ( $t(364)=3,3$ ,  $p<0,01$ ) schlechtere Messwerte auf als Buben mit 1,25. Beide waren jedoch unter einem  $\alpha$ -EGR von 1,40 und im Mittel ausreichend mit Riboflavin versorgt. Statistisch signifikante Unterschiede der Geschlechter konnten weder bei den Erwachsenen noch bei den Senioren festgestellt werden.

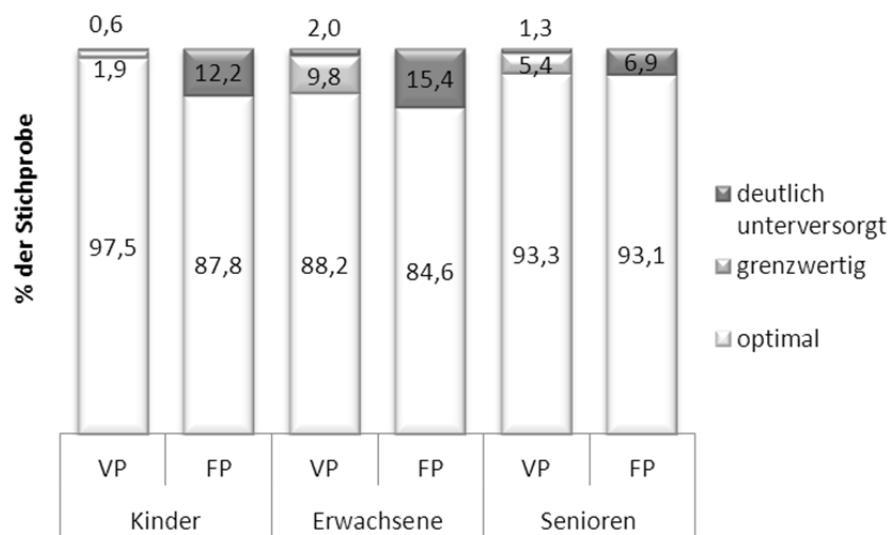
**Tab. 24: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Riboflavinaufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht**

	Kinder (7–14 Jahre)		Erwachsene (18–64 Jahre)		Senioren (65–80 Jahre)	
	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert	Median (IQR)
	± SD		± SD		± SD	
<b>Versorgungsparameter (nmol Riboflavin/mmol Kreatinin)</b>						
<b>gesamt</b>	313 ± 470	180 (95; 362)	121 ± 168	83 (41; 152)	166 ± 176	110 (60; 222)
<b>weiblich</b>	320 ± 556	172 (88; 347)	133 ± 138	94,7 (52; 162)	170 ± 188	113 (67; 235)
<b>männlich</b>	307 ± 372	189 (98; 379)	110 ± 193	74 (33; 128)	160 ± 161	102 (53; 196)
<b>Funktionsparameter (<math>\alpha</math>-EGR)</b>						
<b>gesamt</b>	1,28 ± 0,12	1,27 (1,20; 1,35)	1,27 ± 0,13	1,26 (1,19; 1,36)	1,22 ± 0,13	1,20 (1,14; 1,30)
<b>weiblich</b>	1,30 ± 0,13	1,30 (1,21; 1,38)	1,28 ± 0,14	1,26 (1,19; 1,37)	1,22 ± 0,13	1,20 (1,15; 1,30)
<b>männlich</b>	1,26 ± 0,11	1,25 (1,18; 1,32)	1,27 ± 0,13	1,26 (1,18; 1,35)	1,22 ± 0,13	1,20 (1,13; 1,31)
<b>Riboflavinaufnahme (mg/d)</b>						
<b>gesamt</b>	1,2 ± 0,4	1,1 (0,8; 1,4)	1,3 ± 0,5	1,2 (1,0; 1,5)	1,2 ± 0,5	1,2 (0,9; 1,4)
<b>weiblich</b>	1,1 ± 0,4	1,1 (0,8; 1,3)	1,2 ± 0,4	1,2 (1,0; 1,4)	1,2 ± 0,6	1,0 (0,8; 1,4)
<b>männlich</b>	1,3 ± 0,5	1,2 (0,9; 1,6)	1,4 ± 0,6	1,3 (1,0; 1,6)	1,3 ± 0,5	1,2 (1,0; 1,4)

In Anlehnung an die Statusdaten zeigten auch die Aufnahmedaten unterschiedliche Ergebnisse in den jeweiligen Altersgruppen ( $H(2)=14$ ,  $p<0,01$ ). Die Riboflavinaufnahme war bei den Kindern mit 1,1 mg/d niedriger als bei den Erwachsenen mit 1,2 mg/d ( $U=68594$ ,  $Z=-3,6$ ,  $p<0,001$ ), Senioren hatten eine durchschnittliche Riboflavinaufnahme von 1,16 mg/d (gerundet 1,2 mg/d) und unterschieden sich hinsichtlich der Aufnahmemenge weder von den Kindern noch von den Erwachsenen signifikant. Mädchen nahmen mit 1,1 mg/d geringfügig weniger Riboflavin auf als Buben mit 1,2 mg/d ( $t(339)=-3,9$ ,  $p<0,001$ ), Frauen mit 1,2 mg/d weniger als Männer mit 1,3 mg/d ( $U=16711$ ,  $Z=-2,9$ ,  $p<0,05$ ). Senioren wiesen keine geschlechtsspezifischen Unterschiede der Zufuhrmengen auf.

Aufgrund der zentralen Rolle von Riboflavin im Energiestoffwechsel ist der individuelle Bedarf vom Energieumsatz abhängig [GIBSON, 2005]. Da dieser bei den weiblichen Probanden geringer war [ELMADFA et al., 2012], benötigten sie weniger Riboflavin um ihren Bedarf zu decken.

Abb. 12 stellt die Vitamin B<sub>2</sub>-Versorgung der Kinder, Erwachsenen und Senioren im untersuchten Studienkollektiv dar.



**Abb. 12:** Die Bewertung des Vitamin B<sub>2</sub>-Status der Kinder (n=347/368), Erwachsenen (n=413/412) und Senioren (n=166/194) anhand der Riboflavinausscheidung über den Harn (VP) und der Aktivierbarkeit der Glutathionreduktase in den Erythrozyten (FP)

Ca. 88–98 % der Studienteilnehmer waren mit einer Riboflavinausscheidung von >24 nmol/mmol in einem optimalen Versorgungsbereich. Lediglich 0,6 % der Kinder, 2 % der Erwachsenen und 1,3 % der Senioren hatten eine Unterversorgung mit Ausscheidungsmengen von <8 nmol/mmol. Die kurzfristige Versorgungssituation kann mit grenzwertigen Befunden (8–24 nmol/mmol) von max. 10 % der Studienteilnehmer als zufriedenstellend eingestuft werden.

Die längerfristige Versorgungssituation, bewertet anhand des Stimulierungseffektes der Glutathionreduktase, zeigte, dass 7–15 % der untersuchten Personen einen α-EGR von >1,4 und somit ein hohes Risiko eines Defizits aufwiesen. Aufgrund der Methodik

wurde ein Aktivierungskoeffizient von <1,4 zur optimalen Bedarfsdeckung festgelegt, welcher mit den Ergebnissen des Versorgungsparameters übereinstimmt und in der Literatur als etablierter Referenzwert verwendet wird [SAUBERLICH, 1999]. Allerdings werden auch Referenzwerte mit einem  $\alpha$ -EGR von <1,5 [HESEKER et al., 1992] oder <1,3 [BOISVERT et al., 1993] für eine optimale Bedarfsdeckung herangezogen, wodurch eine Gegenüberstellung mit diesen Studien erschwert wird.

Die Betrachtung der kurz- und längerfristige Riboflavinversorgung zeigte, dass 88–98 % der Kinder, 85–88 % der Erwachsenen und 93 % der Senioren optimal mit Vitamin B<sub>2</sub> versorgt waren. Die längerfristige Riboflavinversorgung sollte in Anbetracht der grenzwertigen Bereiche der Enzymstimulierung (1,2–1,4), trotz einer weitgehend optimalen Bedarfsdeckung, beachtet werden. Auffallend war, dass Senioren eine sehr geringe Prävalenz niedriger Messwerte aufwiesen und somit riboflavinhaltige Lebensmittel wie Fleisch und Milch [SCOUCI et al., 2008] ausreichend konsumierten [ELMADFA et al., 2012].

Optimal mit Riboflavin versorgte Studienteilnehmer hatten die in Tab. 25 für Kinder, Erwachsene und Senioren zusammengefasste tägliche Riboflavinaufnahme.

**Tab. 25: Vitamin B<sub>2</sub>-Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin B<sub>2</sub>-Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht**

Statusindikatoren	Mediane der Vitamin B <sub>2</sub> -Aufnahme (mg/d) <sup>1</sup>		
	Kinder (w; m)	Erwachsene (w; m)	Senioren (w; m)
Riboflavin >24 nmol/mmol	1,13 (1,09; 1,18)	1,21 (1,16; 1,38)	1,22 (1,15; 1,23)
$\alpha$ -ETK <1,40	1,13 (1,09; 1,17)	1,22 (1,14; 1,38)	1,22 (0,98; 1,24)

<sup>1</sup> Personen, welche angaben, Vitaminsupplemente einzunehmen, wurden bei dieser Auswertung ausgeschlossen  
w...weiblich, m...männlich

Kinder mit einer optimalen Bedarfsdeckung nahmen rund 1,1 mg/d Riboflavin auf und lagen somit eher im unteren Bereich der D-A-CH-Empfehlungen [2012] von 1,1–1,6 mg/d für Kinder zwischen 7–14 Jahren. Die D-A-CH-Referenzwerte für Kinder sind in ihrer Aufnahmemenge angemessen, um den Riboflavinbedarf zu decken. Kinder in

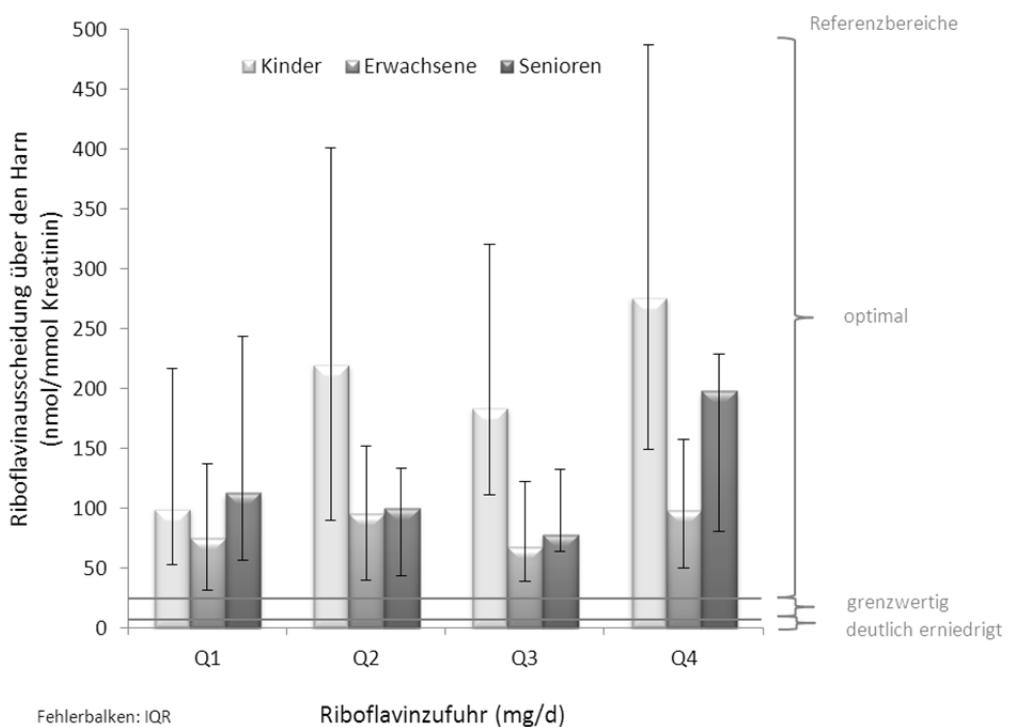
dem Studienkollektiv sollten jedoch ihre längerfristige Riboflavinaufnahme beachten und in einzelnen Fällen geringfügig verbessern, um die altersentsprechende empfohlene Zufuhr zu erreichen. Optimal mit Riboflavin versorgte Erwachsene nahmen durchschnittlich 1,2 mg/d auf, Frauen nahmen mit rund 1,2 mg/d geringfügig weniger Riboflavin auf als Männer mit 1,4 mg/d. Beide erreichten somit die Empfehlungen (Frauen: 1,2 mg/d, Männer: 1,3–1,5 mg/d) [D-A-CH, 2012] und bestätigten eine bei dieser Zufuhrmenge ausreichende Bedarfsdeckung an Riboflavin. Ausreichend mit Vitamin B<sub>2</sub> versorgte Senioren nahmen den Empfehlungen entsprechend 1,2 mg/d Riboflavin auf [D-A-CH, 2012] und bestätigten eine optimale Bedarfsdeckung bei diesen Aufnahmemengen. Der individuelle Riboflavinbedarf kann jedoch auch bei einer den Empfehlungen entsprechenden Aufnahme durch einen sehr hohen Energieumsatz [SOARES et al., 1993] sowie durch sonstige Einflussfaktoren (u.a. Genetik [MCNULTY und SCOTT, 2008]) weiter gesteigert werden. Um eine optimale Leistungsfähigkeit zu erreichen, sollten die individuellen Einflussfaktoren berücksichtigt werden.

Unterschiede der Riboflavinaufnahme spiegelten sich sowohl bei der über den Harn ausgeschiedenen Riboflavinmenge als auch bei dem Aktivierungskoeffizienten der EGR wider (siehe Abb. 13 und Abb. 14).

Alle Altersgruppen wiesen im Quartil der niedrigsten Aufnahme (Q1) eine mittlere Riboflavinausscheidung von >24 nmol/mmol auf und waren trotz einer teilweise unter den Empfehlungen liegenden Aufnahme durchschnittlich ausreichend mit Vitamin B<sub>2</sub> versorgt. Die Riboflavinausscheidung im Q4 der Kinder (276 nmol/mmol), der Erwachsenen (98 nmol/mmol) und der Senioren (198 nmol/mmol) ist verglichen mit Q1, Q2 und Q3 am höchsten. Der deutlichste Einfluss der Riboflavinaufnahme auf die Riboflavinausscheidung wurde bei den Kinder beobachtet ( $H(3)=40,162$ ,  $p<0,001$ ). Die Riboflavinausscheidungsmengen stiegen von Q1 auf Q4 mit Werten von 100 nmol/mmol (Q1), 220 nmol/mmol (Q2), 184 nmol/mmol (Q3) und 276 nmol/mmol (Q4) an. Vergleichbar stark ausgeprägte Ergebnisse konnten weder bei den Erwachsenen noch bei den Senioren beobachtet werden. Obwohl auch das Q4 der

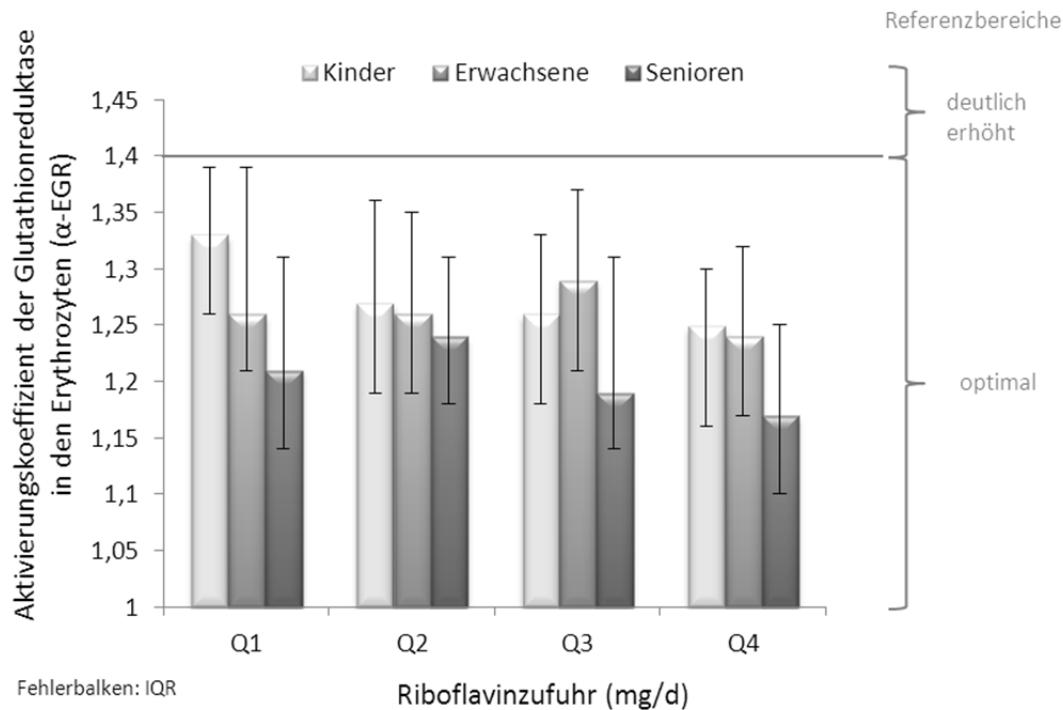
Erwachsenen die höchste mittlere Riboflavinausscheidung aufwies, waren die Ergebnisse statistisch nicht signifikant. Ein Zusammenhang zwischen der kurzfristigen Versorgungssituation und der Riboflavinaufnahme der Senioren war zwar ersichtlich ( $H(3)=9$ ,  $p<0,05$ ), aber die signifikanten Unterschiede ( $U=939$ ,  $Z=-2,9$ ,  $p<0,008$ ) beschränkten sich auf Q2 (100 nmol/mmol) und Q4 (198 nmol/mmol).

Eine durch steigende Riboflavinaufnahme bedingte dosisabhängige Riboflavinausscheidung bestätigte in den Untersuchungen von ITOKAWA et al. [1992] die direkte Auswirkung der Zufuhr auf den VP. Aktuellere Studien zeigten eine Korrelation zwischen der Aufnahme und Ausscheidung an Riboflavin [FUKUWATARI und SHIBATA, 2008, TSUJI et al., 2010]. Dieser Zusammenhang wurde bei den untersuchten Kindern eindeutig bestätigt, ein Trend konnte auch bei den Erwachsenen und Senioren aufgezeigt werden konnte.



**Abb. 13:** Riboflavauria über den Harn in Bezug zur Riboflavinzufuhr der Quartile der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176). Die Riboflavinzufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <0,8; 0,8-1,1; 1,2-1,4, >1,4 mg/d, für Erwachsene <1,0; 1,1-1,2; 1,3-1,5; >1,5 mg/d und für Senioren <0,9; 0,9-1,2; 1,3-1,4; >1,4 mg/d.

Die längerfristige Versorgungssituation wurde ebenfalls durch die Riboflavinzufuhr beeinflusst und ist in Abb. 14 dargestellt. Die Stimulation der Glutathionreduktase war im Q4 weniger stark ausgeprägt als im Q1, Q2 und Q3 und zeigte bei den höchsten Zufuhrmengen die beste Versorgung in allen drei Altersgruppen ( $\alpha$ -EGR im Q4 der Kinder: 1,25, Erwachsenen: 1,24 und Senioren: 1,17) auf. Der Einfluss der Riboflavinaufnahme auf die  $\alpha$ -EGR wurde wiederum bei den Kindern am eindeutigsten identifiziert ( $H(3)=31$ ,  $p<0,001$ ). Q1 hatte mit einem durchschnittlichen  $\alpha$ -EGR von 1,33 die ungünstigste Aktivitätsstimulierung der Glutathionreduktase verglichen mit Q2 (1,27,  $U=3260$ ,  $Z=-3,6$ ,  $p<0,008$ ), Q3 (1,26,  $U=2705$ ,  $Z=-4,4$ ,  $p<0,008$ ) und Q4 (1,25,  $U=2083$ ,  $Z=-5,5$ ,  $p<0,008$ ).



**Abb. 14: Aktivierungskoeffizient der Glutathionreduktase in den Erythrozyten in Bezug zur Riboflavinzufuhr der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Riboflavinzufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <0,8; 0,8-1,1; 1,2-1,4; >1,4 mg/d, für Erwachsene <1,0; 1,1-1,2; 1,3-1,5; >1,5 mg/d und für Senioren <0,9; 0,9-1,2; 1,3-1,4; >1,4 mg/d.

Ein positiver Trend wurde, wenngleich statistisch nicht signifikant, auch bei den Erwachsenen ersichtlich. In Übereinstimmung mit dem VP wurde der  $\alpha$ -EGR der

Senioren ebenfalls durch die Riboflavinzufuhr beeinflusst ( $H(3)=12$ ,  $p<0,01$ ), die signifikanten Unterschiede lagen wieder zwischen Q2 mit 1,24 und Q4 mit 1,17 ( $U=1114$ ,  $Z=-3,4$ ,  $p<0,008$ ). Das Quartil der niedrigsten Riboflavinzufuhr (Q1) lag mit Zufuhrmengen <0,8 mg/d für Kinder, <1,0 mg/d für Erwachsene und <0,9 mg/d für Senioren deutlich unter den Empfehlungen [D-A-CH, 2012]. Die Laborbefunde dokumentierten im Mittel einen  $\alpha$ -EGR <1,4 in allen Altersgruppen und zeigten somit eine optimale Bedarfsdeckung auch bei einer unter den Empfehlungen liegenden Riboflavinaufnahme.

Ein Systematic Review von HOEY et al. [2009] beschrieb die Messung des  $\alpha$ -EGR als Golden Standard der Riboflavinstatusbestimmung, da sie in 14 Studien an unterschiedlichen Personengruppen angewandt wurde und zu aussagekräftigen Ergebnissen führte. In den aktuell erhobenen Daten konnte die direkte Auswirkung unterschiedlicher Aufnahmemengen auf den  $\alpha$ -EGR bestätigt werden.

Die Entwicklung der Riboflavinversorgung in Österreich wurde nur anhand des FP bei Kindern und Senioren beschrieben, Daten für Erwachsene fehlen. Der Riboflavinstatus zeigte kaum Veränderungen, 1998 hatten 12–15 % der Kinder und ca. 3 % der Senioren einen  $\alpha$ -EGR >1,4 [ELMADFA et al., 1998], die aktuellen Erhebungen bestätigten diese Befunde bei 12 % der Kinder und 6 % der Senioren.

Die Beurteilung der Riboflavinversorgung anhand von VP und FP zeigte in Deutschland eine ähnliche Prävalenz mit niedrigen Riboflavinausscheidungsmengen bei 3,7 % und einem ungünstig erhöhten  $\alpha$ -EGR (>1,5) bei 4,2 % der Erwachsenen [HESEKER et al., 1992]. Die aktuellen Daten dokumentierten bei 2 % der Erwachsenen eine ungünstige kurzfristige Versorgung und bei 6 % eine längerfristige Unterversorgung.

Fazit: 85–88 % der Erwachsenen und 93 % der Senioren wiesen einen sehr zufriedenstellenden Vitamin B<sub>2</sub>-Status auf. Anhand der für Erwachsene etablierten Referenzwerte konnten 88–98 % der Kinder mit einem zufriedenstellenden Riboflavinstatus bewertet werden. Eindeutige geschlechtsspezifische Muster konnten durch die Beurteilung beider Biomarker nicht erfasst werden. Der Einfluss der

Riboflavinaufnahme auf die Ausscheidung über den Harn und die Enzymaktivität der Glutathionreduktase wurde deutlich erkennbar und zeigte, dass bei einer den Empfehlungen entsprechenden Aufnahme der Bedarf an Riboflavin weitgehend gedeckt werden konnte.

#### 4.2.3 Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung

Der Vitamin B<sub>6</sub>-Status wurde anhand der PLP-Konzentration im Plasma als VP und anhand des Aktivierungstests der Aspartataminotransferase in den Erythrozyten als FP beurteilt. Je höher die PLP-Werte im Plasma und je geringer der Stimulierungseffekt der EAST ausfiel, desto besser war die Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung [GIBSON, 2005]. Die Ergebnisse der Biomarker und der Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme sind in Tab. 26 zusammengefasst und für Altersgruppen und Geschlecht getrennt dargestellt.

Die kurz- bis mittelfristige Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung gestaltete sich zwischen den Altersgruppen unterschiedlich ( $H(2)=48$ ,  $p<0,001$ ). Kinder hatten mit Werten von 68 nmol/l deutlich höhere PLP-Konzentrationen als Erwachsene mit 56 nmol/l ( $U=73141$ ,  $Z=-5,7$ ,  $p<0,017$ ) und Senioren mit 54 nmol/l ( $U=36794$ ,  $Z=-5,9$ ,  $p<0,017$ ). Die PLP-Konzentrationen der Erwachsenen und Senioren unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Auch der FP dokumentierte eine altersabhängige Veränderung zwischen den Bevölkerungsgruppen ( $H(2)=36$ ,  $p<0,001$ ), der niedrigste Stimulierungseffekt der EAST konnte jedoch bei den Senioren mit 1,67 festgestellt werden. Sie waren damit längerfristig am günstigen mit Vitamin B<sub>6</sub> versorgt und unterschieden sich signifikant von den Erwachsenen mit einem α-EAST von 1,79 ( $U=39337$ ,  $Z=-4,7$ ,  $p<0,017$ ) und den Kindern mit einem α-EAST von 1,80 ( $U=36214$ ,  $Z=-6$ ,  $p<0,017$ ). Eindeutige Trends ließen sich aus den Statusdaten für die jeweiligen Altersgruppen nicht ableiten. Die hohen PLP-Konzentrationen im Plasma der Kinder deuteten somit nicht auf eine bessere Versorgungssituation hin, die durch den FP bestätigt wurde, sondern zeigten physiologische Unterschiede dieser Personengruppe auf. Ergebnisse aus den USA bestätigten eine altersabhängige Veränderung der Plasmawerte. Kinder hatten PLP-

Konzentrationen im Plasma von 60–65 nmol/l, wohingegen Erwachsene und Senioren Konzentrationen zwischen 49–51 nmol/l aufwiesen [CDC, 2012]. Die kurz-mittelfristige Statusbeurteilung der Kinder ist nur bedingt möglich, die etablierten Cut-Offs für Erwachsene, von 20 nmol/l bzw. 30 nmol/l als Grenze einer Unterversorgung, müssen zur Statusbeurteilung angewandt werden.

**Tab. 26: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht**

	Kinder		Erwachsene		Senioren	
	(7–14 Jahre)		(18–64 Jahre)		(65–80 Jahre)	
	Mittelwert ± SD	Median (IQR)	Mittelwert ± SD	Median (IQR)	Mittelwert ± SD	Median (IQR)
<b>Versorgungsparameter (nmol PLP/l)</b>						
<b>Gesamt</b>	78 ± 42	68 (52; 94)	78 ± 88	56 (38; 88)	112 ± 155	54 (36; 85)
<b>Weiblich</b>	79 ± 43	68 (51; 97)	81 ± 114	53 (36; 76)	113 ± 158	58 (37; 106)
<b>Männlich</b>	77 ± 41	69 (53; 91)	74 ± 52	57 (39; 95)	111 ± 152	54 (34; 78)
<b>Funktionsparameter (α-EAST)</b>						
<b>Gesamt</b>	1,83 ± 0,25	1,80 (1,66; 1,98)	1,80 ± 0,28	1,79 (1,60; 1,98)	1,68 ± 0,37	1,67 (1,45; 1,85)
<b>Weiblich</b>	1,81 ± 0,25	1,79 (1,65; 1,96)	1,80 ± 0,29	1,80 (1,60; 2,00)	1,66 ± 0,38	1,64 (1,42; 1,83)
<b>Männlich</b>	1,84 ± 0,25	1,81 (1,67; 2,01)	1,80 ± 0,26	1,79 (1,60; 1,97)	1,71 ± 0,36	1,69 (1,52; 1,88)
<b>Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme (mg/d)</b>						
<b>Gesamt</b>	1,3 ± 0,6	1,3 (0,9; 1,7)	1,7 ± 1,1	1,5 (1,1; 1,9)	1,3 ± 0,6	1,3 (0,9; 1,7)
<b>Weiblich</b>	1,3 ± 0,5	1,2 (0,9; 1,5)	1,5 ± 0,8	1,4 (1,0; 1,6)	1,2 ± 0,5	1,2 (0,9; 1,6)
<b>Männlich</b>	1,4 ± 0,7	1,3 (1,0; 1,6)	1,9 ± 1,3	1,7 (1,3; 2,2)	1,5 ± 0,7	1,3 (1,1; 1,8)

Geschlechtsspezifische signifikante Unterschiede konnten weder bei Kindern noch bei Erwachsenen oder Senioren in Bezug auf den VP oder den FP festgestellt werden. Die Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme war allerdings in allen Altersgruppen bei den männlichen Studienteilnehmern höher als bei den weiblichen (Kinder: U=17028, Z=-2,6, p<0,01, Erwachsene: U=14149, Z=-5,1, p<0,001, Senioren: U=4783, Z=-2,6, p<0,05), was sich aus dem geschlechtsspezifischen Energieumsatz [HABER, 2009] und einem damit einhergehenden erhöhten Vitamin B<sub>6</sub>-Bedarf der männlichen Studienteilnehmer ableiten lässt.

Die Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme variierte zwischen den Bevölkerungsgruppen. Erwachsene hatten mit 1,5 mg/d eine deutlich höhere Aufnahme als Kinder (U=59546, Z=-6,4,

$p<0,017$ ) und Senioren ( $U=33420$ ,  $Z=-5$ ,  $p<0,017$ ) mit 1,3 mg/d. Auch die Proteinaufnahme war bei den Erwachsenen deutlich höher als bei den Senioren und den Kinder [ELMADFA et al., 2012]. Bezogen auf das Körpergewicht hatten Erwachsene mit 1,1 g/kg eine über den Empfehlungen von 0,8 g/kg [D-A-CH, 2012] liegende Proteinzufluss. Da Vitamin B<sub>6</sub> eine zentrale Rolle im Aminosäurestoffwechsel spielt [MILLER et al., 1985] ist der Bedarf von der Proteinzufluss abhängig. Erwachsene benötigten somit eine größere Menge Vitamin B<sub>6</sub>, um ihren Bedarf zu decken.

Die Beurteilung des Vitamin B<sub>6</sub>-Status anhand von VP und FP ist in Abb. 15 für Kinder, Erwachsene und Senioren abgebildet.

Anhand der etablierten Grenzen für Erwachsene lagen ca. 1 % der Kinder unter einer PLP-Konzentration im Plasma von 30 nmol/l und 42 % über einem ungünstigen  $\alpha$ -EAST von 1,85. Somit waren 58—99 % der Kinder kurz- bis längerfristig optimal mit Vitamin B<sub>6</sub> versorgt.

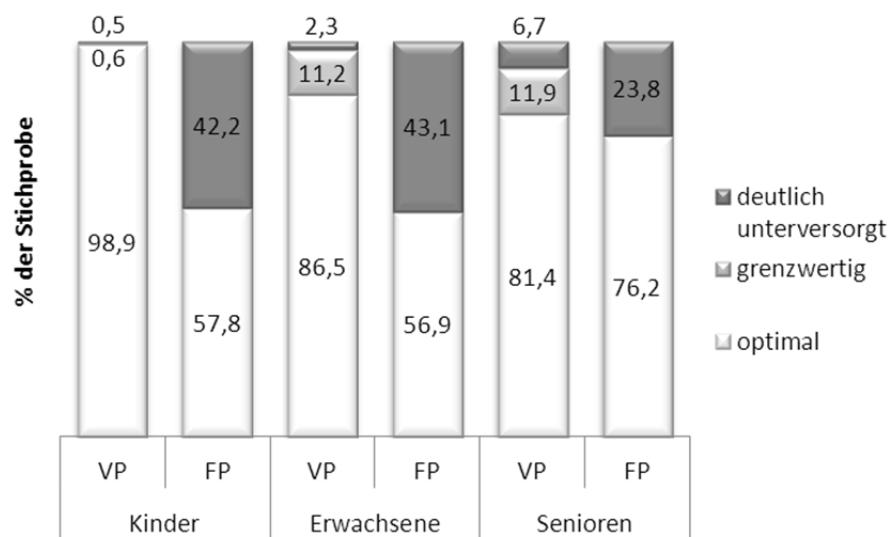


Abb. 15: Die Bewertung des Vitamin B<sub>6</sub>-Status der Kinder (n=367/363), Erwachsenen (n=414/412) und Senioren (n=193/192) anhand der Pyridoxal-5-Phosphat-Konzentration im Plasma (VP) und der Aktivierbarkeit der Aspartataminotransferase in den Erythrozyten (FP)

Der VP und der FP der Erwachsenen war durchschnittlich über den entsprechenden Referenzwerten (PLP: >30 nmol/l,  $\alpha$ -EAST: <1,85) und konnte bei 57—87 % der

Studienteilnehmer mit einer normalen Versorgungssituation bewertet werden. 43 % der Erwachsenen hatten eine längerfristig ungünstige Bedarfsdeckung mit Werten >1,85. Dies stellte eine deutliche Diskrepanz zu dem VP dar, welcher nur bei 11 % grenzwertige und bei 2 % ungünstige Plasmakonzentrationen aufzeigte.

Die Prävalenz niedriger Messwerte der Senioren schien deutlich besser zu sein, nur 24 % hatten einen ungünstigen  $\alpha$ -EAST von >1,85. Eine Vitamin B<sub>6</sub>-Unterversorgung kann aber auch erst ab einem  $\alpha$ -EAST von >2,00 bestehen [SAUBERLICH, 1999]. Bei diesem Referenzwert waren 22 % der Erwachsenen und 15 % der Senioren in einem deutlich erniedrigten Versorgungszustand. Diese Interpretation der Daten des FP steht eher in Übereinstimmung mit dem VP, welcher grenzwertige und deutlich erniedrigte Konzentrationen bei 14 % der Erwachsenen und 18 % der Senioren aufzeigte.

Obwohl eine gute Korrelation zwischen der PLP-Konzentration und dem gesamten Vitamin B<sub>6</sub> besteht [HANSEN et al., 1997], fehlen zusätzliche Validierungsstudien der PLP-Konzentration durch den  $\alpha$ -EAST [SAUBERLICH, 1999], um die Differenzen des VP und des FP zu erklären.

Die Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhrmengen, welche in dem Studienkollektiv zu einem optimalen Vitamin B<sub>6</sub>-Status führten, sind in Tab. 27 für Kinder, Erwachsene und Senioren angegeben.

**Tab. 27: Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin B<sub>6</sub>-Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht**

Statusindikatoren	Mediane der Vitamin B <sub>6</sub> -Aufnahme (mg/d) <sup>1</sup>		
	Kinder (w; m)	Erwachsene (w; m)	Senioren (w; m)
PLP >30 nmol/l	1,22 (1,22; 1,21)	1,50 (1,37; 1,65)	1,33 (1,26; 1,35)
$\alpha$ -EAST <1,85	1,17 (1,10; 1,20)	1,55 (1,42; 1,71)	1,34 (1,34; 1,34)

<sup>1</sup> Personen, welche angaben, Vitaminsupplemente einzunehmen, wurden bei dieser Auswertung ausgeschlossen  
w...weiblich, m...männlich

Die durchschnittliche Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhr der optimal versorgten Kinder betrug 1,2 mg/d. Sie war im Referenzbereich der altersspezifischen Empfehlungen von 0,7–1,4 mg/d [D-A-CH, 2012]. Diese Zufuhrmenge schien die kurz- und längerfristige

Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung der untersuchten Kinder zu decken. Allgemeine Aussagen aufgrund des Fehlens altersspezifischer Referenzwerte zur Statusbeurteilung können nur bedingt getätigt werden.

Die Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhrempfehlungen der Erwachsenen beträgt für Frauen 1,2 mg/d und für Männer 1,5 mg/d [D-A-CH, 2012]. Eine optimale Bedarfsdeckung konnte im Studienkollektiv mit einer durchschnittlichen Zufuhr von rund 1,4 mg/d für Frauen und 1,7 mg/d für Männer erreicht werden. Da die Proteinaufnahme der Erwachsenen mit 1,1 g/kg Körpergewicht über den empfohlenen 0,8 g/kg Körpergewicht lag, erhöhte sich der Vitamin B<sub>6</sub>-Bedarf. Bei einer den Empfehlungen entsprechenden Proteinaufnahme von 0,8 g/kg Körpergewicht sind die D-A-CH-Referenzwerte [2012] in ihrer Höhe angemessen, um den Vitamin B<sub>6</sub>-Bedarf der Erwachsenen zu decken.

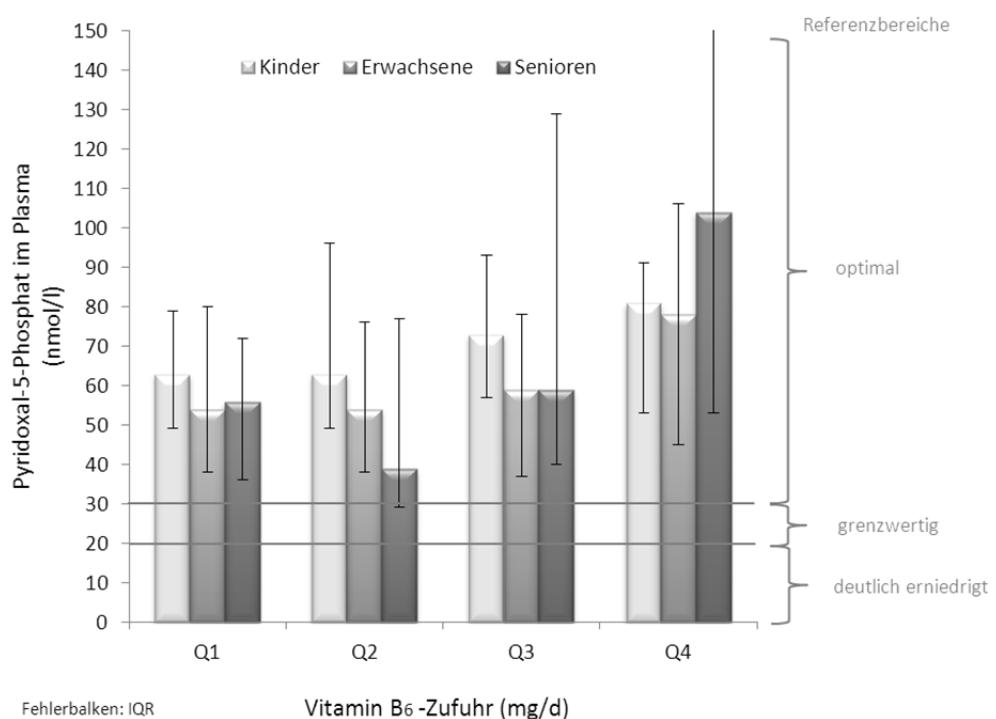
Senioren, die einen optimalen Vitamin B<sub>6</sub>-Status aufwiesen, hatten eine durchschnittliche Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme von 1,3 mg/d, wobei weibliche Senioren geringfügig niedrigere Aufnahmemengen zeigten als männliche. Diese Zufuhrmengen entsprachen den Empfehlungen von 1,2 mg/d für Frauen und 1,4 mg/d für Männer [D-A-CH, 2012]. Je nach Proteinumsatz sollte die Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhr dem individuellen Bedarf angepasst werden. Als Richtwert für eine optimale Bedarfsdeckung der Senioren kann jedoch eine Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme von 1,3 mg/d in dem Studienkollektiv angenommen werden.

Der Vitamin B<sub>6</sub>-Status wurde mit unterschiedlichen Prävalenzzahlen einer Unterversorgung je nach angewandtem Biomarker bewertet. Zukünftige Validierungsstudien sollten den Vitamin B<sub>6</sub>-Status genauer betrachten, um aussagekräftige Cut-Offs der einzelnen Biomarker für die verschiedenen Altersgruppen zu etablieren. Die derzeitige Interpretation ist dementsprechend limitiert.

Die Ergebnisse der biochemischen Parameter bei unterschiedlichen Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren sind in Abb. 16 und in Abb. 17 dargestellt. Der direkte Einfluss der Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme auf die PLP-Konzentrationen im Plasma wurde bestätigt. Der FP jedoch, welcher nur längerfristig

beeinflusst wird [GIBSON, 2005], wurde durch die aufgenommene Vitamin B<sub>6</sub>-Menge im Untersuchungszeitraum weniger beeinträchtigt.

Die höchsten PLP-Konzentrationen im Plasma konnten bei der höchsten Zufuhrmenge (Q4) der Kinder (81 nmol/l), Erwachsenen (78 nmol/l) und Senioren (104 nmol/l) beobachtet werden. Kinder hatten bei einer steigenden Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhr eine steigende durchschnittliche PLP-Konzentration im Plasma ( $H(3)=10$ ,  $p<0,05$ ), mit signifikanten ( $U=3788$ ,  $Z=-2,6$ ,  $p<0,008$ ) Unterschieden zwischen Q1 und Q3. Die PLP-Konzentration stieg von 63 nmol/l im Q1 (<0,9 mg/d) auf 81 nmol/l im Q4 (>1,7 mg/d) an. Ein Trend wurde ebenfalls bei den Erwachsenen sichtbar ( $H(3)=11$ ,  $p<0,05$ ). Die PLP-Konzentrationen stiegen von 54 nmol/l (Q1 und Q2) auf 59 nmol/l (Q3) und in weiterer Folge auf 78 nmol/l (Q4) an.

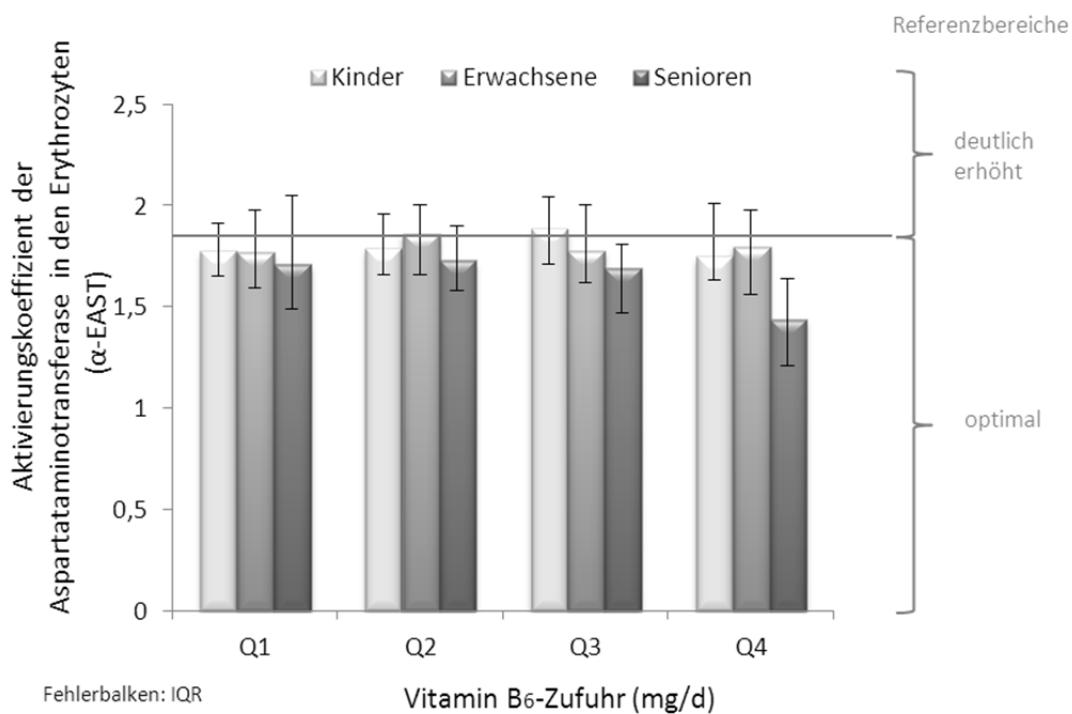


**Abb. 16: Pyridoxal-5-Phosphat im Plasma in Bezug zur Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhr der Quartilen der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <0,9; 0,9-1,3; 1,4-1,7; >1,7 mg/d, für Erwachsene <1,1; 1,1-1,5; 1,6-1,9; >1,9 mg/d und für Senioren <0,9; 0,9-1,3; 1,4-1,7; >1,7 mg/d.

Senioren hatten mit Ausnahme von Q2 einen gleichermaßen positiven Trend der Plasmawerte bei steigender Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhrmenge ( $H(3)=26$ ,  $p<0,001$ ), mit

signifikanten Ergebnissen zwischen Q1 und Q4 ( $U=595$ ,  $Z=-4,2$ ,  $p<0,008$ ) sowie Q2 und Q4 ( $U=659$ ,  $Z=-4,5$ ,  $p<0,008$ ). Bei einer unter den Empfehlungen liegenden Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhrmenge wurde die kritische PLP-Plasmagrenze von 20 nmol/l im Mittel überschritten, allerdings stieg die Prävalenz niedriger Messwerte.

Der direkte Einfluss der Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme auf die PLP-Werte im Plasma konnte auch von CHANG et al. [2007] mit einer guten Korrelation bestätigt werden. Durch eine Vitamin B<sub>6</sub>-Supplementierung wurde schon nach drei Tagen eine Steigerung der PLP-Konzentration im Plasma von bis zu 10 % beobachtet [BOR et al., 2003]. Der VP spiegelte somit die Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung der Studienteilnehmer in dem Untersuchungszeitraum wider und eignete sich zur kurz- bis mittelfristigen Statusbeurteilung, obwohl die Interpretation der Ergebnisse anhand der fehlenden Referenzwerten noch schwierig ist.



**Abb. 17: Aktivierungskoeffizient der Aspartataminotransferase in den Erythrozyten in Bezug zur Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhr der Quartile der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <0,9; 0,9-1,3; 1,4-1,7; >1,7 mg/d, für Erwachsene <1,1; 1,1-1,5; 1,6-1,9; >1,9 mg/d und für Senioren <0,9; 0,9-1,3; 1,4-1,7; >1,7 mg/d.

Die Ergebnisse des FP und der Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme dokumentierten weniger eindeutige Zusammenhänge. Eine eindeutige Verbesserung oder Verschlechterung der längerfristigen Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung durch verschiedene Zufuhrmengen konnte weder bei Kindern noch bei Erwachsenen beobachtet werden. Lediglich die Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme der Senioren hatte einen signifikante Einfluss auf die Aktivitätsstimulierung der EAST ( $F(3, 170)=8,3$ ,  $p<0,001$ ), mit einer deutlich besseren Versorgung im Q4 und damit dem niedrigsten  $\alpha$ -EAST von 1,44 im Vergleich zu den anderen Quartilen. Geringe Korrelationen zwischen der Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme und dem  $\alpha$ -EAST konnten an 444 Erwachsenen [BRUSSAARD et al., 1997] und an 94 Senioren [HUANG et al., 2001] mit Korrelationskoeffizienten von weniger als  $r=-0,214$  bestätigt werden. Eine längerfristige Vitamin B<sub>6</sub>-Supplementierung bei Senioren zeigte jedoch eine deutlich geringere Aktivitätsstimulierung der EAST und bestätigte somit, dass der  $\alpha$ -EAST nur längerfristig beeinflusst wird [WOLTERS et al., 2005]. Die Messung der üblichen Verzehrsgewohnheit in Bezug auf die Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme durch 24h-Recalls oder das 3-Tages-Schätzprotokoll ist dementsprechend nur bedingt möglich. Andere Erhebungsmethoden, beispielsweise ein FFQ, sollten bevorzugt werden. Deutlich wurde, dass die Werte des  $\alpha$ -EAST durch kurzfristige Fluktuationen in der Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme wenig beeinflusst wurden und daher aussagekräftige Ergebnisse über die längerfristige Versorgungssituation zulassen.

Messungen des Vitamin B<sub>6</sub>-Status in Österreich wurden 1998 an Kindern und Senioren, nicht aber an Erwachsenen durchgeführt. Der VP wurde in den Erhebungen von ELMADFA et al. [1998] nicht berücksichtigt, der FP zeigte ungünstige Aktivitätsstimulierungen ( $\alpha$ -EAST >2,00) bei 5–10 % der untersuchten Kinder mit durchschnittlichen Werten zwischen 1,58–1,72. Die Kinder der vorliegenden Studie dokumentierten mit einem mittleren  $\alpha$ -EAST von 1,80 eine deutliche Statusverschlechterung.

Demgegenüber konnte die Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung bei den Senioren positiv bewertet werden. 1998 waren noch 30 % der untersuchten Senioren unversorgt. In den aktuellen Ergebnissen zeigten lediglich 23 % eine ungünstige Bedarfsdeckung auf.

Eine Gegenüberstellung mit den Erwachsenen aus Deutschland erweist sich aufgrund der differenten Analysemethodik schwierig. Die Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung bewertet durch den α-EAST zeigte eine Prävalenz niedriger Versorgungswerte von 4,2 % auf [HESEKER et al., 1992]. In dem aktuellen Studienkollektiv hatten hingegen bis zu 43 % der Erwachsenen einen α-EAST >1,85 und schienen deutlich schlechter mit Vitamin B<sub>6</sub> versorgt zu sein.

Die PLP-Konzentration im Plasma wurde großflächig weder in Österreich noch in Deutschland gemessen. Vergleichswerte aus den USA zeigten jedoch, dass Österreicher in dem Studienkollektiv etwas niedrigere Prävalenzen von Plasmawerten <20 nmol/l aufwiesen. 9–16 % der Erwachsenen und Senioren sowie 2 % der Kinder in den USA hatten niedrigerer Messwerte [CDC, 2012]. Die aktuellen Studienergebnisse bestätigten dies jedoch nur bei 2–7 % der Erwachsenen und Senioren sowie 0,5 % der Kinder. Trotz der hohen PLP-Konzentrationen im Plasma des Studienkollektivs sollte die längerfristige Bedarfsdeckung an Vitamin B<sub>6</sub> beachtet und in zukünftigen Erhebungen genauer betrachtet werden.

Fazit: Die biochemischen Daten zur Erfassung des Vitamin B<sub>6</sub>-Status zeigten keine Unterschiede zwischen den männlichen und weiblichen Studienteilnehmern, allerdings war eine deutlich höhere Zufuhr an Vitamin B<sub>6</sub> bei den männlichen Probanden bemerkbar. Bewertet durch VP und FP hatten 58–99 % der Kinder, 57–87 % der Erwachsenen und 67–81 % der Senioren eine optimale Vitamin B<sub>6</sub>-Bedarfsdeckung, jedoch sollte die längerfristige Versorgung beachtet werden. Eine erhebliche Diskrepanz zwischen dem VP und dem FP wurde bei der Statusbeurteilung festgestellt, diese widersprüchlichen Ergebnisse können nur bedingt durch das Fehlen altersentsprechender Referenzwerte erklärt werden.

Eine den D-A-CH-Referenzwerten [2012] entsprechende Vitamin B<sub>6</sub>-Aufnahme kann als ausreichend angesehen werden, um den Nährstoffbedarf der untersuchten Personen zu decken. Bei einer individuell erhöhten Proteinzufluhr, sollte jedoch die Vitamin B<sub>6</sub>-Zufuhr angepasst werden.

#### 4.2.4 Vitamin B<sub>12</sub>-Versorgung

Die Vitamin B<sub>12</sub>-Versorgung wurde anhand der Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma als VP und der Methylmalonsäureausscheidung über den Harn als FP bestimmt. Der FP wurde an einem Subsample der „Österreichischen Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012“ im Rahmen einer Diplomarbeit am *Institut für Ernährungswissenschaften* der *Universität Wien* analysiert und ist zur Übersicht in dieser Arbeit enthalten [NEUMANN, 2012]. Aufgrund der Stichprobengröße des Subsamples (297 Erwachsene und 86 Senioren) können die Daten nicht direkt mit den in dieser Arbeit erhobenen verglichen werden.

**Tab. 28: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht**

	Kinder (7–14 Jahre)		Erwachsene (18–64 Jahre)		Senioren (65–80 Jahre)	
	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert	Median (IQR)
	± SD		± SD		± SD	
<b>Versorgungsparameter (Vitamin B<sub>12</sub> im Plasma (pmol/l))</b>						
<b>gesamt</b>	389 ± 186	352 (258; 473)	285 ± 313	237 (174; 316)	254 ± 135	222 (151; 331)
<b>weiblich</b>	390 ± 200	333 (253; 469)	280 ± 175	235 (175; 323)	245 ± 135	222 (145; 334)
<b>männlich</b>	388 ± 170	371 (277; 491)	290 ± 406	238 (173; 299)	265 ± 136	242 (189; 330)
<b>Funktionsparameter (Methylmalonsäure im Harn (mmol/mol Kreatinin))</b>						
<b>gesamt</b>	-	-	1,56 ± 1,45	1,23 (0,40; 2,10)	1,38 ± 1,55	0,87 (0,32; 2,01)
<b>weiblich</b>	-	-	1,66 ± 1,43	1,36 (0,50; 2,22)	1,33 ± 1,03	1,16 (0,36; 2,04)
<b>männlich</b>	-	-	1,48 ± 1,49	1,12 (0,40; 2,05)	1,42 ± 1,97	0,54 (0,24; 1,48)
<b>Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahme (µg/d)</b>						
<b>gesamt</b>	5,9 ± 12	3,6 (2,6; 4,8)	4,5 ± 4,0	3,9 (2,4; 5,5)	4,5 ± 5,0	3,0 (2,0; 5,3)
<b>weiblich</b>	5,1 ± 8,5	3,4 (2,4; 4,5)	3,7 ± 4,6	3,1 (2,0; 4,6)	4,8 ± 6,2	2,9 (2,0; 4,7)
<b>männlich</b>	6,7 ± 14,0	3,8 (2,6; 5,0)	5,3 ± 2,9	4,6 (3,2; 6,4)	4,0 ± 2,8	3,2 (2,0; 5,7)

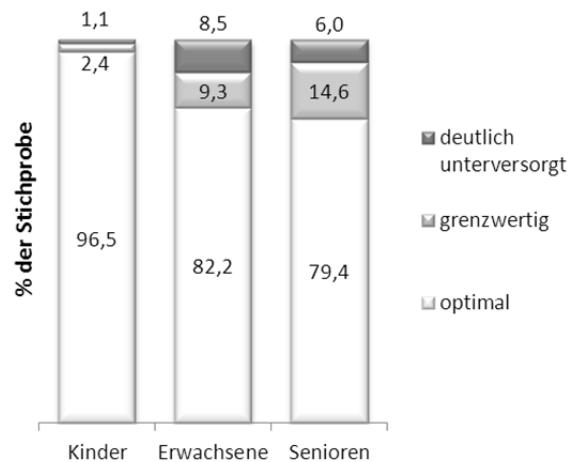
Die Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma waren im Durchschnitt bei Kindern, Erwachsenen und Senioren über 147 pmol/l und deuteten auf eine ausreichende Nährstoffversorgung hin. Das Subsample der Erwachsenen und Senioren war im Mittel unter einer ungünstigen MMA-Ausscheidungsgrenze von 3,7 mmol/mol Kreatinin und zeigte ebenfalls einen guten Vitamin B<sub>12</sub>-Status dieser Personen auf.

Unterschiede der Vitamin B<sub>12</sub>-Versorgung zwischen den Altersgruppen konnten beobachtet werden ( $H(2)=205$ ,  $p<0,001$ ). Kinder hatten mit 352 pmol/l deutlich höhere Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma als Erwachsene ( $U=48516$ ,  $Z=-12$ ,  $p<0,017$ ) und Senioren ( $U=20595,5$ ,  $Z=-12$ ,  $p<0,017$ ) mit 237 pmol/l und 222 pmol/l. Die Aufnahmemengen der Altersgruppen variierten dementsprechend ( $H(2)=11933$ ,  $p<0,01$ ): Senioren nahmen mit 3,0 µg/d am wenigsten Vitamin B<sub>12</sub> auf, gefolgt von Kindern mit 3,6 µg/d und Erwachsenen mit 3,9 µg/d. Diese Mediane lagen über den empfohlenen Aufnahmemengen von 1,8–3 µg/d für Kinder und 3 µg/d für Erwachsene und Senioren [D-A-CH, 2012]. Obwohl die Zufuhrmenge der Kinder zwischen jener der Erwachsenen und Senioren lag, hatten sie weitaus höhere Plasmawerte. Physiologische Veränderungen der Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentration im Plasma mit steigendem Alter konnten in Erhebungen aus den USA bestätigt werden, die Vitamin B<sub>12</sub>-Werte der Kinder sanken im jugendlichen Alter und stabilisierten sich bei den Erwachsenen und Senioren

[CDC, 2012]. Geschlechtsspezifische statistisch signifikante Unterschiede konnten weder bei dem VP noch bei dem FP festgestellt werden, die Vitamin B<sub>12</sub>-Zufuhrmengen waren bei Frauen und Männern ähnlich hoch.

Altersspezifische Referenzwerte für Kinder fehlen. Um ihren Status

klassifizieren zu können, müssen daher die Werte für Erwachsene herangezogen werden. Die



**Abb. 18:** Die Bewertung des Vitamin B<sub>12</sub>-Status der Kinder (n=367), Erwachsenen (n=418) und Senioren (n=174) anhand der Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentration im Plasma

Beurteilung des Vitamin B<sub>12</sub>-Status ist in Abb. 18 für Kinder, Erwachsene und Senioren dargestellt. Eine deutliche Unterversorgung lag bei einem Plasmaspiegel <110 pmol/l, grenzwertige Konzentrationen bei 110–147 pmol/l und eine optimale

Versorgungssituation bei Werten >147 pmol/l vor [SAUBERLICH, 1999]. Die Ergebnisse der Vitamin B<sub>12</sub>-Statusbeurteilung zeigten, dass gerundet 97 % der Kinder, 82 % der Erwachsenen und 79 % der Senioren optimal mit Vitamin B<sub>12</sub> versorgt waren. Die höchste Prävalenz grenzwertiger Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen hatten Senioren mit 15 %, die niedrigste Kinder mit 2,4 %. 9 % der Erwachsenen, 6 % der Senioren und ca. 1 % der Kinder hatten ein erhebliches Risiko einer Vitamin B<sub>12</sub>-Unterversorgung. Durch die Beurteilung des Vitaminstatus konnte verdeutlicht werden, dass Erwachsenen und Senioren eine höhere Prävalenz niedriger Messwerte als Kinder aufwiesen.

Untersuchungen von SELHUB et al. [2008] versuchten durch Regressionsmodelle, optimale Referenzwerte für die Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma zu erstellen, bei denen die FP von Vitamin B<sub>12</sub>, wie beispielsweise die Messung der Homocystein- oder der MMA-Konzentration im Plasma, ein optimales Level erreichen. Niedrige MMA-Konzentrationen konnten bei einer Vitamin B<sub>12</sub>-Plasmakonzentration von >150 pmol/l, niedrige Homocysteinwerte bei >300 pmol/l, erzielt werden. Die Prävalenzzahlen einer Vitamin B<sub>12</sub>-Unterversorgung variierten je nach verwendetem Referenzwert oder Biomarker und erschwerten die Statusinterpretation [BAILEY et al., 2011]. Zukünftige Studien sollten die Cut-Off-Diskussion zu einem Endpunkt bringen, um internationale Vergleiche zu erleichtern und altersentsprechende Referenzwerte zu etablieren. Häufig in der Literatur verwendete Referenzwerte der Biomarker sind im Literaturüberblick in Tab. 7 im Kapitel 2.6.1 zusammengefasst.

**Tab. 29: Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin B<sub>12</sub>-Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht**

Statusindikatoren	Mediane der Vitamin B <sub>6</sub> -Aufnahme ( $\mu\text{g/d}$ ) <sup>1</sup>		
	Kinder (w; m)	Erwachsene (w; m)	Senioren (w; m)
>300 pmol/l	3,63 (3,36; 3,74)	4,14 (3,04; 5,03)	3,41 (3,36; 3,74)
>147 pmol/l	3,59 (3,38; 3,74)	4,08 (3,05; 4,68)	3,52 (3,21; 5,04)

<sup>1</sup> Personen, welche angaben, Vitaminsupplemente einzunehmen, wurden bei dieser Auswertung ausgeschlossen  
w...weiblich, m...männlich

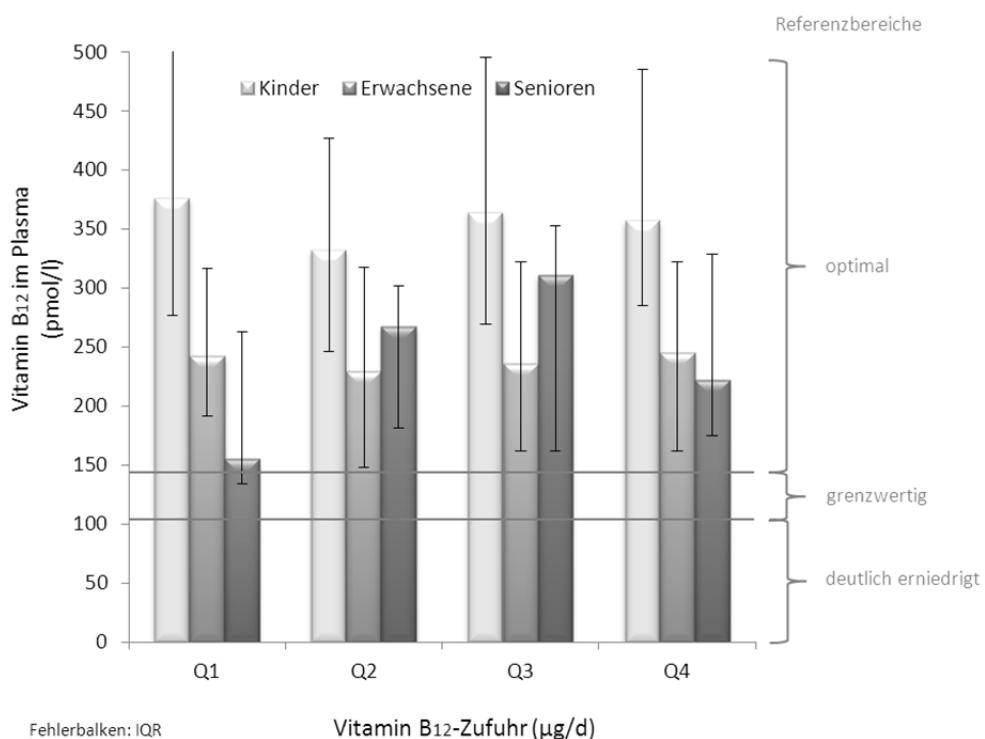
Unter der Annahme, dass ein optimaler Vitamin B<sub>12</sub>-Status bei Plasmawerten >147 pmol/l bzw. >300 pmol/l gewährleistet werden kann, hatten die optimal versorgten Personen in dem Studienkollektiv Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahmemengen über 3 µg/d. Die genauen Zufuhrmengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren sind in Tab. 29 angegeben.

Untersuchungen an 299 Erwachsenen in Florida dokumentierten erst bei einer täglichen Aufnahme von 4,2–7 µg optimale Versorgungen, bestimmt durch verschiedene biochemische Parameter (Cobalamin, MMA, TC und Homocystein) im Plasma [BOR et al., 2010]. Diese Zufuhrmengen liegen weit über den internationalen Empfehlungen und sollten an einem größeren Studienkollektiv überprüft werden. Erste Vitamin B<sub>12</sub>-Studien zeigten, dass sich bei einer Aufnahme von 0,5–1,0 µg/d die hämatologischen Veränderungen normalisierten und Symptome eines Mangels abgewandt werden konnten [DARBY et al., 1958]. Ein durchschnittlicher Bedarf wird in Europa meist mit 1,4 µg/d festgelegt [NOVAKOVIC et al., 2012], welcher deutlich unter den Aufnahmemengen der optimal versorgten Studienteilnehmer liegt.

Obwohl die empfohlene Zufuhr für Vitamin B<sub>12</sub> [D-A-CH, 2012] über denen anderer Ernährungsgesellschaften liegt [NRC, 2006, WHO, 2004, NNR, 2004, SCF, 1993], konnten die Empfehlungen in ihrer Menge von den Studienteilnehmern erreicht oder überschritten werden. Die aktuellen Untersuchungen ergaben, dass Kinder bei einer Aufnahme von 3,6 µg/d, Erwachsene mit 4,1 µg/d und Senioren mit 3,5 µg/d optimal mit Vitamin B<sub>12</sub> versorgt waren.

Der Einfluss der Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahme auf die Plasmawerte bei unterschiedlichen Zufuhrmengen ist in Abb. 19 dargestellt. Kinder hatten deutlich höhere Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma als Erwachsene und Senioren, die Aufnahmemengen beeinflussten die Plasmawerte jedoch kaum. Die Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen waren auch bei einer Aufnahme im Q1, also <2,6 µg/d, mit Werten von 376 pmol/l zuläglich. Die Vitamin B<sub>12</sub>-Versorgung der Erwachsenen wurde durch unterschiedliche Aufnahmemengen (Q1, Q2, Q3 und Q4) kaum beeinflusst. Lediglich die Vitamin B<sub>12</sub>-

Konzentrationen im Plasma der Senioren wurden durch die Aufnahmemengen positiv beeinflusst ( $H(3)=12$ ,  $p<0,01$ ). Q1 hatte bei einer Aufnahme von  $<2 \mu\text{g}/\text{d}$  mit 155 pmol/l die niedrigste durchschnittliche Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentration im Plasma, und unterschied sich signifikant von Q2 mit 267 pmol/l ( $U=789$ ,  $Z=-3$ ,  $p<0,008$ ) und Q3 mit 311 pmol/l ( $U=992$ ,  $Z=-2,7$ ,  $p<0,008$ ). Q4 hatte eine durchschnittliche Konzentration von 222 pmol/l bei Aufnahmemengen über 5,3  $\mu\text{g}/\text{d}$ .



**Abb. 19: Vitamin B<sub>12</sub> im Plasma in Bezug zur Vitamin B<sub>12</sub>-Zufuhr der Quartile der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Vitamin B<sub>12</sub>-Zufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <2,6; 2,6-3,6; 3,7-4,8; >4,8  $\mu\text{g}/\text{d}$ , für Erwachsene <2,4; 2,4-3,9; 4,0-5,5; >5,5  $\mu\text{g}/\text{d}$  und für Senioren <2,0; 2,0-3,0; 3,1-5,3; >5,3  $\mu\text{g}/\text{d}$ .

Das Systematic Review von HOEY et al. [2009] zeigte bei geringen und grenzwertigen Plasmakonzentrationen an Vitamin B<sub>12</sub> einen engen Zusammenhang mit der oral zugefügten Menge an Vitamin B<sub>12</sub>. Da grenzwertige Konzentrationen nur im Q1 der Senioren beobachtet wurden, konnte hier der Einfluss der Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahme am deutlichsten bestätigt werden. Aus aktuelleren Erhebungen wurde ein starker zwischen Zusammenhang der Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahme und dem Plasmaspiegel und somit die Messung des VP als valide Bestimmungsmethode der Vitamin B<sub>12</sub>-Versorgung

bestätigt [BOR et al., 2010]. Eine weitere Hypothese wäre, dass Kinder und Erwachsene mit Zufuhrmengen im Q1 von <2,6 µg/d und <2,4 µg/d ihre Plasmakonzentrationen absättigen und somit ihren Bedarf decken konnten, Senioren allerdings größere Zufuhrmengen als <2 µg/d (Q1) benötigten. Diese Zufuhrmengen stimmen auch mit dem in Europa angenommenen durchschnittlichen Bedarf von 1,4 µg/d für Erwachsene [NOVAKOVIC et al., 2012] oder dem durchschnittlichen Bedarf der Länder Deutschland, Österreich und Schweiz mit 2 µg/d [D-A-CH, 2012] überein.

Obwohl Personen über 65 Jahre in industrialisierten Ländern zu den Risikogruppen einer inadäquaten Vitamin B<sub>12</sub>-Aufnahme zählen [ALLEN, 2009, ANDRÈS et al., 2004, BAIK und RUSSELL, 1999, HIN et al., 2006], ist für diese Bevölkerungsgruppe keine dementsprechend höhere Zufuhrmenge ausgesprochen. Die Etablierung von Referenzwerten für die Vitamin-B<sub>12</sub>-spezifischen Biomarker sollte zukünftige Zufuhrempfehlungen der Altersgruppen erleichtern. Obwohl Senioren im untersuchten Studienkollektiv die höchste Prävalenz eines Vitamin B<sub>12</sub>-Defizits hatten, waren sie nur geringfügig schlechteren mit Vitamin B<sub>12</sub> versorgt als Erwachsene unter 65 Jahren, eine größere Aufnahmemenge als durchschnittlich 3,4–3,5 µg/d kann aufgrund der vorliegenden Daten nicht empfohlen werden.

Die Vitamin B<sub>12</sub>-Versorgungssituation der Kinder hat sich seit 1998 kaum verändert. Deutlich erniedrigte Messwerte konnten bei 1–2 % der Plasmaproben festgestellt werden [ELMADFA et al., 1998], die aktuellen Daten bestätigten eine Unterversorgungsprävalenz von 1,1 %. Die Vitamin B<sub>12</sub>-Versorgung der Kinder scheint in Österreich durch eine optimale Bedarfsdeckung äußerst zufriedenstellend zu sein. Eine leichte Statusverbesserung konnte auch bei den Senioren beobachtet werden, ca. 10 % hatten 1998 niedrige Plasmawerte wohingegen aus den aktuellen Daten hervorgeht, dass nur mehr 6 % der Senioren Plasmawerte <110 pmol/l aufwiesen. Vergleichswerte für Erwachsene wurden in Österreich bis dato nicht durch ein größeres Studienkollektiv erhoben.

Verglichen mit den biochemischen Befunden aus Deutschland waren die untersuchten Erwachsenen in Österreich ähnlich gut mit Vitamin B<sub>12</sub> versorgt. Eine mangelhafte Bedarfsdeckung (<110 nmol/l) wurde in der aktuellen Untersuchung bei 9,3 % der Messwerte erfasst. Aus den Ergebnissen von HESEKER et al. [1992] wurden bei einem Cut-Off <136 nmol/l 4,3 % der untersuchten Erwachsenen mit niedrigen Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma diagnostiziert. Aufgrund der unterschiedlichen Referenzwerte und Analysemethoden ist ein Vergleich schwierig, die mittleren Plasmakonzentrationen waren mit 302 pmol/l [HESEKER et al., 1992] und 237 pmol/l jedoch über den verwendeten Cut-Offs und zeigten im Mittel eine optimale Bedarfsdeckung an Vitamin B<sub>12</sub> auf.

Interessante Differenzen konnten in Bezug auf Ergebnisse aus den USA beobachtet werden. Die Vitamin B<sub>12</sub>-Werte im Plasma waren bei den Untersuchungen des *Centre for Disease Control and Prevention* [2012] deutlich höher als in den aktuellen Erhebungen, Kinder wiesen Konzentration von bis zu 537 pmol/l, Erwachsene von 335–344 pmol/l und Senioren von 355 pmol/l auf. Die Prävalenz niedriger Messwerte stieg des Weiteren bei Erwachsenen über 40 Jahren an. Aufgrund der Folatfortifikation der Grundnahrungsmittel und dem Einfluss von Fолат auf den Vitamin B<sub>12</sub>-Metabolismus scheint eine Verbesserung des Vitamin B<sub>12</sub>-Status von Pre- zu Post-Fortifikation ausschlaggebend für die höheren Plasmawerte zu sein [CDC, 2012], jedoch auch unterschiedliche Verzehrmuster können Veränderungen der Plasmawerte hervorrufen [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Fazit: Die Vitamin B<sub>12</sub>-Versorgung war bei 97 % der Kinder, 82 % der Erwachsenen und 79 % der Senioren mit Plasmawerten >147 pmol/l optimal. Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten weder bei dem FP noch bei der Vitamin B<sub>12</sub>-Zufuhrmenge identifiziert werden. Die Untersuchungen zeigten, dass Kinder mit einer Aufnahme von 3,6 µg/d, Erwachsene mit 4,1 µg/d und Senioren mit 3,5 µg/d optimal mit Vitamin B<sub>12</sub> versorgt waren. Jedoch auch geringere Zufuhrmengen können ausreichen, um den Nährstoffbedarf zu decken. Senioren, welche weniger als 2 µg/d Vitamin B<sub>12</sub> zührten,

hatten eine höhere Prävalenz niedriger Messwerte und sollten daher diese Aufnahmemenge nicht unterschreiten.

Die empfohlenen Zufuhrmengen für Vitamin B<sub>12</sub> in Deutschland, Österreich und der Schweiz [D-A-CH, 2012] liegen zwar über den Empfehlungen anderer Ernährungsorganisationen, sie sind allerdings in ihrer Menge angemessen, um den Nährstoffbedarf der Bevölkerungsgruppen der Kinder, Erwachsenen und Senioren zu decken.

#### 4.2.5 Folatversorgung

Die Ergebnisse des Folatstatus, ermittelt durch die Folatkonzentration im Plasma als VP und die Homocysteinkonzentration im Plasma als FP, sind zusammen mit der Folatzufuhr in Tab. 30 für Kinder, Erwachsene und Senioren zusammengefasst.

Die mittleren Folatkonzentrationen variierten zwischen den Altersgruppen ( $H(2)=12$ ,  $p<0,01$ ). Erwachsene hatten mit 16 nmol/l höhere Plasmawerte als Kinder mit 14,7 nmol/l ( $U=82230$ ,  $Z=-3,3$ ,  $p<0,017$ ) und Senioren mit 14,6 nmol/l (n.s.). Obwohl beide Geschlechter den Referenzwert von 13,4 nmol/l für eine optimale Bedarfsdeckung überschritten, hatten Frauen mit einer Folatkonzentration von 16,8 nmol/l deutlich höhere Werte und daher einen besseren Folatstatus als Männer mit 14,7 nmol/l ( $t(416)=3,1$ ,  $p<0,01$ ). Kinder und Senioren wiesen keine statistisch signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschiede auf.

Die Ergebnisse der Homocysteinkonzentrationen im Plasma dokumentierten einen altersabhängigen Trend der untersuchten Gruppen ( $H(2)=549$ ,  $p<0,001$ ). Kinder hatten demnach mit 8,8 µmol/l eine geringere Konzentration als Erwachsene mit 13,1 µmol/l ( $U=18901$ ,  $Z=-20$ ,  $p<0,017$ ) und diese wiederum eine geringere Konzentration als Senioren mit 14,6 µmol/l ( $U=41717$ ,  $Z=-4,4$ ,  $p<0,017$ ). Die männlichen Probanden der Kinder, Erwachsenen und Senioren hatten nachweislich höhere Homocysteinwerte als die weiblichen: Kinder 8,9 versus 8,5 µmol/l ( $t(364)=-3,3$ ,  $p<0,001$ ), Erwachsene 14,2 versus 11,9 µmol/l ( $U=14126$ ,  $Z=-7,2$ ,  $p<0,001$ ) und Senioren 15,3 versus 13,5 µmol/l ( $U=5228$ ,  $Z=-3,6$ ,  $p<0,001$ ). Die Konzentrationsunterschiede deuteten

jedoch nicht zwingend auf eine Verschlechterung des Folatstatus hin, da das Alter (durch die Abnahme der Nierenfunktion) und Geschlecht (durch den Östrogeneffekt der Frauen vor der Menopause) die Homocysteinkonzentrationen beeinflussen und eine derartige Differenzierung nur bedingt zur Statusbeurteilung herangezogen werden kann (siehe Kapitel 2.5.5).

**Tab. 30: Versorgungs- und Funktionsparameter und die tägliche Folataufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht**

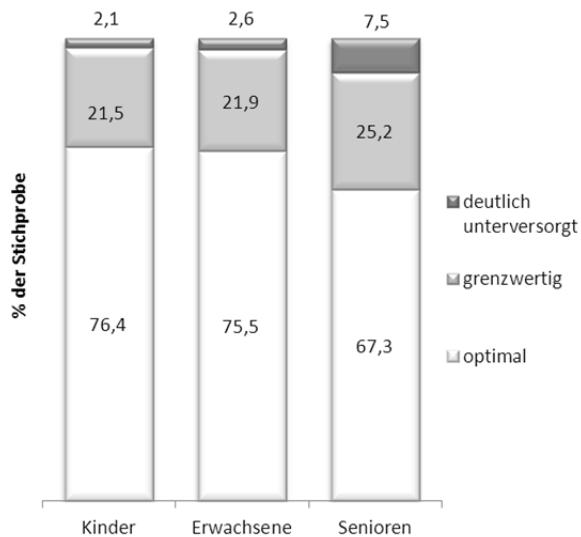
	Kinder (7–14 Jahre)		Erwachsene (18–64 Jahre)		Senioren (65–80 Jahre)	
	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert ±	Median (IQR)
	± SD		± SD		SD	
<b>Versorgungsparameter (Folat im Plasma (nmol/l))</b>						
<b>gesamt</b>	15,6 ± 7,0	14,7 (9,9; 19,5)	18,1 ± 10,1	16,0 (11,1; 22,1)	17,5 ± 12,9	14,1 (9,5; 21,6)
<b>weiblich</b>	16,0 ± 7,1	14,7 (9,8; 20,5)	19,7 ± 11,6	16,8 (11,7; 24,2)	17,4 ± 12,9	13,7 (9,4; 21,5)
<b>männlich</b>	15,1 ± 6,8	14,2 (10,0; 18,8)	16,6 ± 8,1	14,7 (9,9; 21,5)	17,7 ± 13,0	14,8 (9,8; 22,1)
<b>Funktionsparameter (Homocystein im Plasma (µmol/l))</b>						
<b>gesamt</b>	8,9 ± 1,8	8,8 (7,8; 10,0)	13,9 ± 4,9	13,1 (11,1; 15,5)	15,6 ± 7,8	14,6 (12,1; 17,2)
<b>weiblich</b>	8,6 ± 1,8	8,5 (7,5; 9,7)	12,6 ± 3,7	11,9 (10,3; 14,3)	14,2 ± 5,0	13,5 (11,8; 15,7)
<b>männlich</b>	9,2 ± 1,7	8,9 (8,0; 10,4)	15,2 ± 5,6	14,2 (12,3; 16,5)	17,3 ± 10,0	15,3 (13,0; 18,8)
<b>Folataufnahme (µg/d)</b>						
<b>gesamt</b>	158 ± 55	153 (117; 194)	212 ± 88	199 (153; 256)	198 ± 85	187 (141; 240)
<b>weiblich</b>	151 ± 54	146 (111; 190)	212 ± 89	199 (149; 260)	194 ± 94	178 (128; 225)
<b>männlich</b>	165 ± 55	160 (129; 200)	212 ± 88	199 (156; 249)	203 ± 73	192 (145; 244)

Weitere Studien bestätigten, dass Frauen eine um ca. 2 µmol/l geringere Homocysteinkonzentration im Plasma aufweisen als gleichaltrige Männer [CDC, 2012, RAUH et al., 2001]. Geschlechtsspezifische Referenzwerte fehlen, um den Folatstatus bestmöglich anhand des FP klassifizieren zu können. Die altersabhängige Erhöhung des Plasmahomocystins kann, wenn auch nur bedingt, durch die physiologische Abnahme der Nierenfunktion erklärt werden [CDC, 2012], trotzdem sollte das Plasmahomocystein als Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen berücksichtigt werden und einem ständigen Monitoring unterliegen [STANGER et al., 2003]. Eindeutige Aussagen über die Unterschiede zwischen Frauen und Männern konnten daher nur durch den VP getätigt werden. Die geschlechtsspezifischen Unterschiede

zeigten sich nur bei den Erwachsenen mit einer besseren Versorgungssituation der Frauen im Vergleich zu den Männern.

Die Folatzufuhr variierte in ihrer Aufnahmemenge zwischen Kindern, Erwachsenen und Senioren ( $H(2)=97$ ,  $p<0,001$ ), Kinder hatten die niedrigste Zufuhrmenge mit 153 µg/d. Sie unterschieden sich signifikant von den Erwachsenen mit 199 µg/d ( $U=48321$ ,  $Z=-9,8$ ,  $p<0,017$ ) und den Senioren mit 187 µg/d ( $U=33037$ ,  $Z=-5,2$ ,  $p<0,017$ ). Geschlechtsspezifische Verzehrmuster konnten weder bei den Erwachsenen noch bei den Senioren festgestellt werden, lediglich Buben nahmen mit 160 µg/d mehr Folat auf als Mädchen mit 146 µg/d ( $U=17595$ ,  $Z=-2,1$ ,  $p<0,05$ ).

Obwohl keine der untersuchten Personengruppen im Mittel die empfohlene Folataufnahmemenge von 300—400 µg/d für Kinder und 400 µg/d für Erwachsene erreichte [D-A-CH, 2012], konnte der Folatstatus bei 76 % der Kinder, 76 % der Erwachsenen und 67 % der Senioren mit Folatkonzentrationen >13,4 nmol/l als sehr zufriedenstellend bewertet werden. Die größte Prävalenz niedriger Messwerte mit Konzentrationen <6,8 nmol/l hatten Senioren mit 7,5 %, aber nur 2—3 % der Kinder und Erwachsenen.



**Abb. 20:** Die Bewertung des Folatstatus der Kinder (n=367), Erwachsenen (n=418) und Senioren (n=181) anhand der Folatkonzentration im Plasma

Eine schwach negative Korrelation zwischen der Folatkonzentration und der Homocysteinkonzentration im Plasma bei Kindern ( $r_s=-0,3$ ,  $p<0,001$ ), Erwachsenen ( $r_s=-0,3$ ,  $p<0,001$ ) und Senioren ( $r_s=-0,2$ ,  $p<0,001$ ) konnte den Zusammenhang der Biomarker und damit den Einfluss von Folat auf den Homocysteinmetabolismus

verdeutlichen. Die Homocysteinkonzentrationen im Plasma waren bei 64 % der Erwachsenen und sogar 76 % der Senioren mit Werten >12 µmol/l sowie bei 16 % der Kinder mit Werten >10 µmol/l in einem ungünstigen Bereich und wiesen dementsprechend mögliche latente Folatdefizite auf. Ernährungsgesellschaften der skandinavischen Länder ziehen einen Referenzwert von <15 µmol/l heran [NNR, 2004]. Dieser liegt zwar deutlich über den 12 µmol/l [D-A-CH, 2012], zeigte aber eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen des VP zur Folatstatusbeurteilung auf. Die Grenze von 12 µmol/l scheint zwar für das Risiko von Herz-Kreislauf-Erkrankungen aussagekräftig [STANGER et al., 2003], nicht aber für die Folatstatusbeurteilung geeignet zu sein, da der Homocysteinmetabolismus, wie im Literaturüberblick beschrieben, mehreren Einflussfaktoren obliegt. Bei einem Referenzwert von 15 µmol/l waren 71 % der untersuchten Erwachsenen und 58 % der Senioren optimal mit Folat versorgt.

Die Folatkonzentration im Plasma sollte als Biomarker für die Messung des Folatstatus bevorzugt werden, da sie spezifisch für die Folatversorgung ist [STANGER et al., 2003]. Allerdings werden auch die Referenzwerte der Folatkonzentration im Plasma diskutiert, beispielsweise wurde ein Referenzwert von >10 nmol/l, basierend auf den Ergebnissen des dritten National Health and Nutrition Examination Survey [WRIGHT et al., 1998], angewandt. Bei dieser Folatkonzentration sank die Homocysteinkonzentration und erreichte ein optimales Level [SELHUB et al., 2008]. Aktuellere Erhebungen in den USA verwenden durch die veränderte Analysemethode einen Cut-Off von 4,5 nmol/l [CDC, 2012]. Deutlich wird, dass je nach verwendetem Cut-Off die Interpretation der Ergebnisse variiert und ein Vergleich mit anderen Studien problematisch wird.

Die optimal mit Folat versorgten Studienteilnehmer nahmen die in Tab. 31 zusammengefassten Folatmengen zu sich. Der Folatbedarf konnte mit ca. 160 µg/d für Kinder und mit 200–210 µg/d für Erwachsene und Senioren gedeckt werden.

**Tab. 31: Folataufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Folatbedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht**

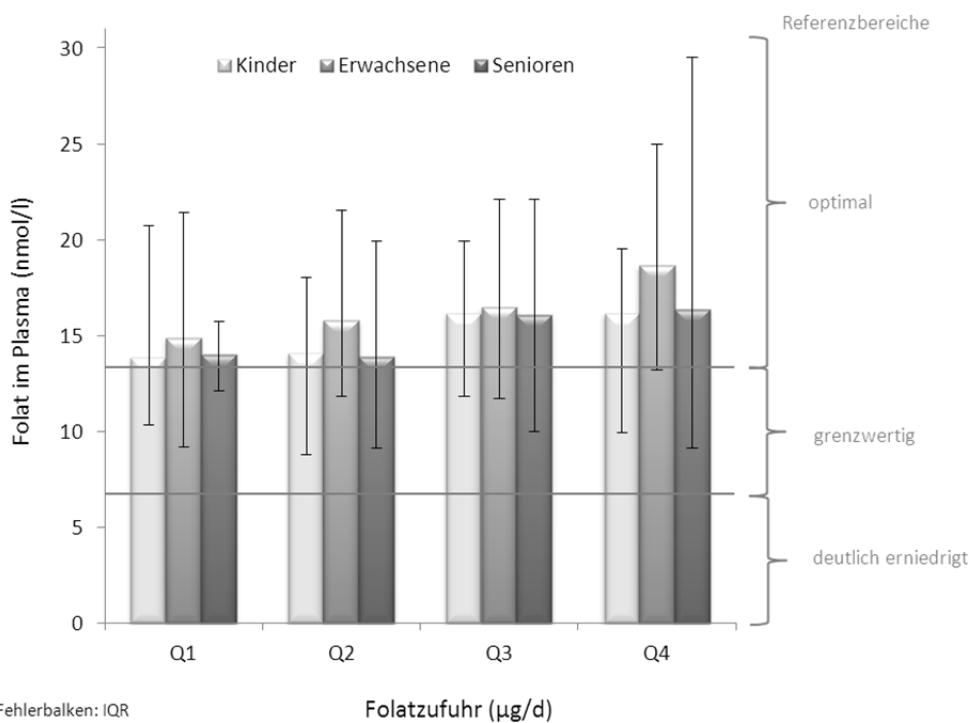
Statusindikatoren	Mediane der Folataufnahme ( $\mu\text{g}/\text{d}$ ) <sup>1</sup>		
	Kinder (w; m)	Erwachsene (w; m)	Senioren (w; m)
Folat >13,4 nmol/l	160 (153; 163)	203 (198; 203)	201 (192; 223)
Homocystein <sup>2</sup> <12 $\mu\text{mol}/\text{l}$	158 (152; 166)	212 (213; 207)	209 (204; 230)

<sup>1</sup> Personen, welche angaben, Vitaminsupplemente einzunehmen, wurden bei dieser Auswertung ausgeschlossen<sup>2</sup> für Kinder wurde der Referenzwert von <10  $\mu\text{mol}/\text{l}$  herangezogen

w...weiblich, m...männlich

Angesichts dieser Ergebnisse wurden die Empfehlungen von 2012 [D-A-CH, 2012] überarbeitet. Die bis dorthin gültigen Empfehlungen von 300  $\mu\text{g}/\text{d}$  für Kinder und 400  $\mu\text{g}/\text{d}$  für Erwachsene und Senioren waren unrealistisch hoch, konnten von den untersuchten Personen kaum erreicht werden und auch geringere Aufnahmemengen, wie die vorliegenden Daten bestätigen, gewährleisteten einen guten Folatstatus [ELMADFA et al., 2012]. Die Empfehlungen wurden somit auf 180—300  $\mu\text{g}/\text{d}$  für Kinder und 300  $\mu\text{g}/\text{d}$  für Erwachsene und Senioren korrigiert und beinhalteten immer noch einen Sicherheitszuschlag, sodass eine optimale Folatversorgung bei fast allen Personen erzielt werden kann [D-A-CH, 2013].

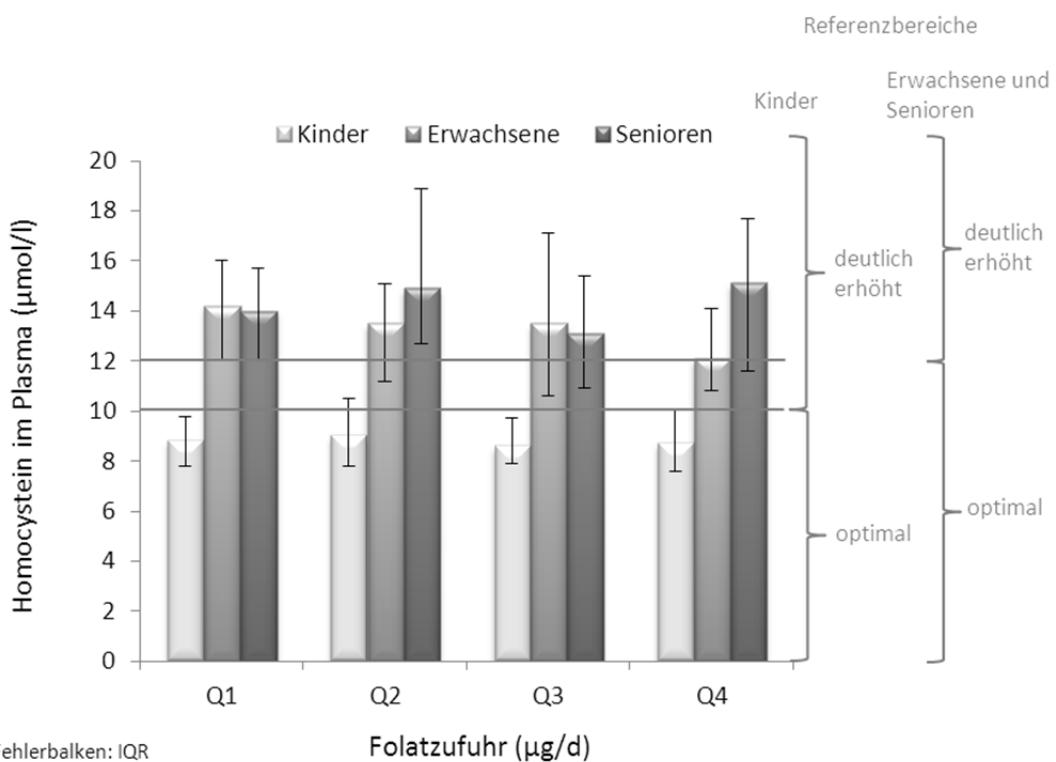
Der Einfluss der Folataufnahme auf die Folatkonzentration im Plasma ist in Abb. 21 für Kinder, Erwachsene und Senioren getrennt dargestellt. Ein steigender Trend des Plasmafolats über die Quartile der Zufuhrmengen wurde, wenngleich nur bei den Erwachsenen statistisch signifikant ( $H(3)=14,299$ ,  $p<0,01$ ), auch bei den Kindern und Senioren erkennbar. Q4, gekennzeichnet durch die höchste Folatzufuhr, wies den höchsten Folatspiegel im Plasma der Kinder (16,2 nmol/l), Erwachsenen (18,7 nmol/l) und Senioren (16,4 nmol/l) im Vergleich zu Q1, Q2 und Q3 auf. Im Mittel wurde sogar im Quartil der geringsten Zufuhrmengen (Q1) von <117  $\mu\text{g}/\text{d}$  bei Kindern, <153  $\mu\text{g}/\text{d}$  bei Erwachsenen und <141  $\mu\text{g}/\text{d}$  bei Senioren eine Folatkonzentration >13,4 nmol/l erreicht.



**Abb. 21: Folat im Plasma in Bezug zur Folatzufuhr der Quartile der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Folatzufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <117; 117-153; 154-194; >194 µg/d, für Erwachsene <153; 153-199; 200-256; >256 µg/d und für Senioren <141; 141-187; 188-240; >240 µg/d.

Die Homocysteinwerte im Plasma in Bezug auf die Folataufnahme zeigten ein weniger eindeutiges Bild und bestätigten somit, dass die Homocysteinkonzentration nicht alleine durch die Folataufnahme beeinflusst wird (Abb. 22). Kinder wiesen keine signifikanten Konzentrationsunterschiede der Quartile auf, die Homocysteinkonzentrationen variierten im Mittel von Q1 mit 8,8 µmol/l bis Q4 mit 8,7 µmol/l kaum und dokumentierten optimale Plasmawerte bei einem Referenzwert von <10 µmol/l. Ein sinkender Trend der Homocysteinkonzentration bei steigender Folatzufuhr konnte jedoch bei den Erwachsenen beobachtet werden ( $H(3)=9,559$ ,  $p<0,05$ ). Q1 mit der niedrigsten Folataufnahme von <153 µg/d hatte die höchste Homocysteinkonzentration (14,2 µmol/l) und unterschied sich signifikant ( $U=3356$ ,  $Z=-3,3$ ,  $p<0,008$ ) von Q4 mit einer Folatzufuhr von >256 µg/d und der niedrigsten Homocysteinkonzentration (12,1 µmol/l). Eine Abweichung der Homocysteinwerte

zwischen den Quartilen der Folataufnahme konnte auch bei den Senioren festgestellt werden ( $H(3)=8,6$ ,  $p<0,05$ ), ein eindeutiger Trend war jedoch nicht erkennbar.



**Abb. 22: Homocystein im Plasma in Bezug zur Folatzufuhr der Quartile der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Folatzufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <117; 117-153; 154-194; >194 µg/d, für Erwachsene <153; 153-199; 200-256; >256 µg/d und für Senioren <141; 141-187; 188-240; >240 µg/d.

Die Folatversorgung wurde vor dieser Studie bei Kindern und Senioren in Österreich anhand der Folatkonzentration im Plasma, nicht aber anhand der Homocysteinwerte beurteilt. Verglichen mit vorhergehenden Erhebungen waren Kinder besser mit Folat versorgt. Deutlich niedrige Folatkonzentrationen im Plasma wurden 1998 bei 20 % diagnostiziert [ELMADFA et al., 1998], demgegenüber hatten bei den aktuellen Untersuchungen lediglich 2,1 % Plasmawerte <6,8 nmol/l. Ein ähnlich positiver Trend konnte bei den Senioren beobachtet werden: 1998 hatten noch ca. 20 % stark ungünstige Plasmawerte [ELMADFA et al., 1998], wohingegen in dem hier untersuchten Studienkollektiv nur noch 7,5 % von einer deutlichen Unterversorgung betroffen waren.

In Erhebungen an Erwachsenen in Deutschland wurde ein Cut-Off von 6 nmol/l zur Statusinterpretation herangezogen, 3,8 % der untersuchten Personen wiesen Plasmakonzentrationen unter dieser Grenze auf [HESEKER et al., 1992]. In den aktuellen Ergebnissen konnte gezeigt werden, dass nur 2,6 % der Erwachsenen einen Folatspiegel <6,8 nmol/l aufwiesen und somit ähnlich gut mit Folat versorgt waren. Ein drastischer Vergleich ergibt sich mit den Ergebnissen des Folatstatus aus den USA, da sie seit 1998 ihre Grundnahrungsmittel mit Folat anreichern. PFEIFFER et al. [2007] haben gezeigt, dass die Folatkonzentrationen im Plasma und den Erythrozyten durch eine Folatfortifikation gesteigert werden konnten und somit den Folatstatus verbesserten. Die Plasmawerte nach der Fortifikation stiegen sogar um mehr als das Doppelte und die Erythrozytenwerte um ca. 50 % an. In der Post-Fortifikationsperiode lag die Prävalenz niedriger Messwerte der Folatkonzentration (<4,5 nmol/l) bei weniger als 1 %, Kinder hatten Folatkonzentrationen zwischen 25–37 nmol/l, Erwachsene 23–27 nmol/l und Senioren von 35 nmol/l. Diese Werte liegen deutlich über den Konzentrationen der untersuchten Studienteilnehmer in Österreich, deren Folatkonzentrationen im Plasma zwischen 14–16 nmol/l lag. Diese Werte entsprachen eher der Pre-Fortifikationsperiode der USA. Die Ergebnisse der Homocysteinwerte des Centre for Disease Control and Prevention können aufgrund der verwendeten Methodik des Immunoassays nicht direkt mit den durch HPLC analysierten Konzentrationen verglichen werden [CDC, 2012]. Obwohl die Folatwerte im Plasma der Österreicher deutlich geringere Konzentrationen aufzeigten als in den USA, war die Prävalenz einer Folatunterversorgung mit Werten <6,8 nmol/l gering (2,1 % der Kinder, 2,6 % der Erwachsenen und 7,5 % der Senioren). Eine großflächige interventive und präventive Maßnahme durch die Folatfortifikation österreichischer Grundnahrungsmittel erscheint nicht sinnvoll, da relativ geringe Zufuhrmengen zwischen 150–210 µg/d den Bedarf decken. Vielmehr sollte Aufklärungsarbeit für Frauen mit Kinderwunsch gefördert werden. Besonders sie sollten die für sie geltenden Aufnahmeempfehlungen [D-A-CH, 2012] beachten, um Aborte, Neuralrohrdefekte und Entwicklungsstörungen zu vermeiden [SAUBERLICH, 1999].

Fazit: Eine positive Entwicklung der Folatversorgung mit sinkenden Prävalenzzahlen einer Unterversorgung wurde in Österreich seit 1998 beobachtet. Der Folatstatus konnte bei 76 % der Kinder, 76 % der Erwachsenen und 67 % der Senioren mit Folatkonzentrationen im Plasma von >13,4 nmol/l als sehr zufriedenstellend bewertet werden. In der Bevölkerungsgruppe der Erwachsenen hatten Frauen einen besseren Folatstatus, bewertet durch VP und FP, als Männer. Kinder und Senioren wiesen keine geschlechtsspezifischen Unterschiede auf.

Die überarbeiteten Empfehlungen von 2013 scheinen in ihrer Menge angemessen, um eine optimale Folatversorgung zu gewährleisten. Die untersuchten Kinder konnten ihren Folatbedarf mit ca. 160 µg/d und die Erwachsenen und Senioren mit 200–210 µg/d decken.

#### 4.2.6 Vitamin C-Versorgung

Die Vitamin C-Versorgung wurde durch die Vitamin C-Konzentration im Plasma als VP bestimmt und ist zusammen mit der Vitamin C-Aufnahme in Tab. 32 für Kinder, Erwachsene und Senioren angeführt.

Die Vitamin C-Konzentrationen zeigten deutliche Unterschiede zwischen den Altersgruppen ( $F(3)=102$ ,  $p<0,001$ ). Kinder hatten mit 83 µmol/l im Mittel höhere Konzentrationen als Erwachsene mit 64 µmol/l ( $t(415)=63$ ,  $p<0,017$ ) und Senioren mit 65 µmol/l ( $t(194)=64$ ,  $p<0,017$ ). Buben wiesen mit einer Vitamin C-Konzentration im Plasma von 86 µmol/l signifikant ( $t(365)=-2,5$ ,  $p<0,05$ ) höhere Werte auf als Mädchen mit 81 µmol/l, sie nahmen dementsprechend mit 76 mg/d mehr Vitamin C auf als Mädchen mit 68 mg/d ( $U=17762$ ,  $Z=-1,9$ ,  $p<0,05$ ). Umgekehrt schienen Frauen mit einer Vitamin C-Konzentration im Plasma von 67 µmol/l besser versorgt zu sein als Männer mit 59 µmol/l ( $t(413)=4,7$ ,  $p<0,01$ ), die Aufnahmedaten konnten die Plasmawerte allerdings nicht erklären, da Frauen wie auch Männer 97 mg/d Vitamin C zührten. Das unterschiedliche Reabsorptionsvermögen von Vitamin C im distalen Nierentubulus zwischen Frauen und Männern scheint für die Differenz der Vitamin C-Konzentrationen im Plasma verantwortlich zu sein. Die Reabsorption verläuft bis zu einer Konzentration von 45 µmol/l äußerst effektiv, danach beginnt die Nierenschwelle mehr oder weniger

wirksam zu werden [OLSON und HODGES, 1987]. Untersuchungen von HESEKER et al. [1992] zeigten ebenfalls einen um 20 % höheren Vitamin C-Spiegel bei Frauen im Vergleich zu gleichaltrigen Männern. Signifikante geschlechtsspezifische Muster der Senioren konnten weder bei den Plasmawerten noch bei den Zufuhrmengen an Vitamin C identifiziert werden. Die Vitamin C-Aufnahme variierte jedoch zwischen Kindern, Erwachsenen und Senioren ( $H(2)=29$ ,  $p<0,001$ ), so hatten Erwachsene mit 97 mg/d die höchste Aufnahme, welche sich signifikant von der Zufuhrmenge der Senioren mit 90 mg/d ( $U=38845$ ,  $Z=-2,5$ ,  $p<0,017$ ) und der Kinder mit 71 mg/d ( $U=62845$ ,  $Z=-5,4$ ,  $p<0,017$ ) unterschied.

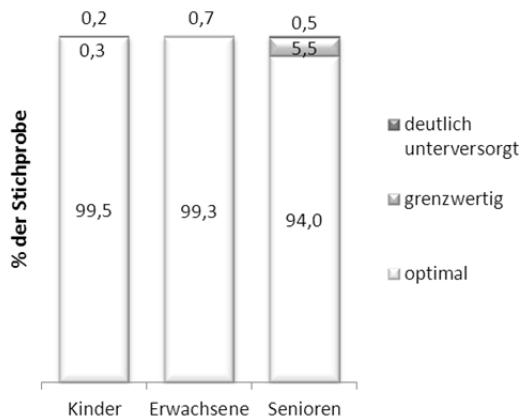
Obwohl Kinder im Vergleich zu den anderen Altersgruppen die niedrigsten Vitamin C-Mengen zuführten, hatten sie die höchsten Vitamin C-Konzentrationen im Plasma und schienen daher am besten mit Vitamin C versorgt zu sein. Die für die Beurteilung des Status herangezogenen Referenzwerte basieren auf Daten für Erwachsene und können nur mit Vorbehalt für Kinder angewandt werden.

**Tab. 32: Versorgungsparameter und die tägliche Vitamin C-Aufnahme der Studienteilnehmer, getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht**

	Kinder (7–14 Jahre)		Erwachsene (18–64 Jahre)		Senioren (65–80 Jahre)	
	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert	Median (IQR)	Mittelwert ±	Median (IQR)
	± SD		± SD		SD	
<b>Versorgungsparameter (Vitamin C im Plasma (µmol/l))</b>						
<b>Gesamt</b>	84 ± 23	83 (70; 98)	63 ± 20	64 (48; 76)	64 ± 25	65 (45; 51)
<b>Weiblich</b>	81 ± 23	81 (68; 95)	67 ± 17	67 (57; 78)	63 ± 26	64 (41; 82)
<b>Männlich</b>	87 ± 23	86 (71; 102)	59 ± 21	59 (42; 72)	65 ± 23	68 (47; 80)
<b>Vitamin C-Aufnahme (mg/d)</b>						
<b>Gesamt</b>	94 ± 99	71 (47; 118)	118 ± 86	97 (58; 155)	102 ± 62	90 (53; 144)
<b>Weiblich</b>	81 ± 56	68 (41; 111)	115 ± 76	97 (59; 149)	107 ± 67	93 (53; 155)
<b>Männlich</b>	107 ± 127	76 (50; 122)	121 ± 95	97 (55; 162)	96 ± 54	90 (53; 132)

Eine im Mittel optimale Bedarfsdeckung mit Plasmawerten >23 µmol/l konnte für beide Geschlechter in allen Altersgruppen beobachtet werden, obwohl die Zufuhrempfehlungen von 80–100 mg/d für Kinder und 100 mg/d für Erwachsene und Senioren [D-A-CH, 2012] nicht immer erreicht wurden.

Die Vitamin C-Versorgung bewertet durch den VP ist in Abb. 23 dargestellt. Im Vergleich zu den zuvor beschriebenen wasserlöslichen Vitaminen ist Vitamin C das Vitamin, dessen Status in dem Studienkollektiv am besten beurteilt wurde. Lediglich 0,5 % der Kinder, 0,7 % der Erwachsenen und 6 % der Senioren wiesen Werte <23 µmol/l auf, 94–99,5 % lagen über diesem Referenzwert und waren daher optimal mit Vitamin C



**Abb. 23: Die Bewertung des Vitamin C-Status der Kinder (n=369), Erwachsenen (n=414) und Senioren (n=194) anhand der Vitamin C-Konzentration im Plasma**

versorgt. Weniger als 1 % der untersuchten Personen hatte Vitamin C-Konzentrationen <11 µmol/l, was als Grenze einer deutlichen Unterversorgung gilt. Eine ausreichende Bedarfsdeckung kann daher auch mit einer unter den Empfehlungen liegenden Vitamin C-Aufnahme erzielt werden.

Die untersuchten Altersgruppen welche Vitamin C-Konzentrationen >23 µmol/l aufwiesen, erreichten die empfohlene Zufuhr von 80–100 mg/d für Kinder und 100 mg/d für Erwachsene und Senioren [D-A-CH, 2012] nur geringfügig nicht und hatten die in Tab. 33 zusammengefassten Aufnahmemengen.

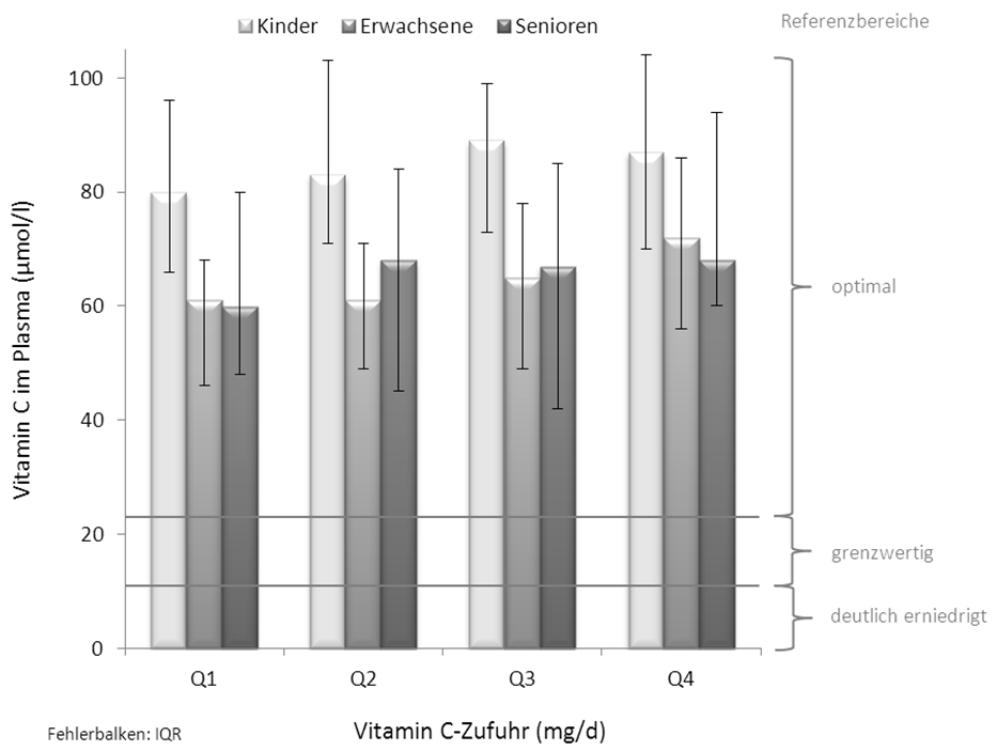
**Tab. 33: Vitamin C-Aufnahmemengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren bei einer optimalen Vitamin C-Bedarfsdeckung, getrennt nach Geschlecht**

Statusindikatoren	Mediane der Vitamin C-Aufnahme (mg/d) <sup>1</sup>		
	Kinder (w; m)	Erwachsene (w; m)	Senioren (w; m)
Vitamin C >23 µmol/l	74 (73; 76)	99 (103; 98)	86 (101; 83)

<sup>1</sup> Personen, welche angaben, Vitaminsupplemente einzunehmen, wurden bei dieser Auswertung ausgeschlossen  
w...weiblich, m...männlich

Die Vitamin C-Aufnahme in Bezug zum Vitamin C-Status ist in Abb. 24 dargestellt, wobei die Zufuhrmengen der Kinder, Erwachsenen und Senioren in die für die jeweilige Altersgruppe entsprechenden Quartilen unterteilt wurden (siehe Tab. 32). Kinder und

Senioren wiesen keine statistisch signifikanten Ergebnisse zwischen den Zufuhrsquartilen auf, ein positiver Trend war jedoch erkennbar. Eindeutige Zusammenhänge der Vitamin C-Aufnahme und der Plasmawerte konnten bei den Erwachsenen festgestellt werden ( $F(4)=7,9$ ,  $p<0,001$ ), Q1 und Q2 unterschieden sich dabei signifikant von Q4 ( $p<0,001$  bzw.  $p<0,01$ ). Die mittleren Vitamin C-Konzentrationen waren im Q1 und Q2 jeweils  $61 \mu\text{mol/l}$ , im Q3  $65 \mu\text{mol/l}$  und im Q4 am höchsten mit  $72 \mu\text{mol/l}$ . Das Quartil der niedrigsten Zufuhrmenge (Q1) bestätigte, dass eine Vitamin C-Aufnahme  $<47 \text{ mg/d}$  für Kinder,  $<58 \text{ mg/d}$  für Erwachsene und  $<53 \text{ mg/d}$  ausreichende Plasmawerte von  $>23 \mu\text{mol/l}$  sicherstellten. Dies unterstreicht, dass die Empfehlungen [D-A-CH, 2012] nicht nur die Plasmawerte optimieren, sondern darüber hinaus die Stärkung des Immunsystems und die Prävention von degenerativen Erkrankungen wie Arteriosklerose, Krebs und Katarakte fördern sollen.



**Abb. 24: Vitamin C im Plasma in Bezug zur Vitamin C-Zufuhr der Quartilen der Kinder (n=332), Erwachsenen (n=380) und Senioren (n=176).** Die Vitamin C-Zufuhrmengen der Quartile (Q1, Q2, Q3, Q4) betrugen für Kinder <47; 47-71; 72-118; >118 mg/d, für Erwachsene <58; 58-97; 98-155; >155 mg/d und für Senioren <53; 53-90; 91-144; >144 mg/d.

Der Vitamin C-Status der Senioren wurde vorhergehend in Österreich untersucht. Die Prävalenzzahlen einer Unterversorgung mit 1 % veränderten sich seit 1998 kaum. Der grenzwertige Bereich mit Plasmawerten zwischen 11–23 µmol/l verbesserte sich hingegen deutlich. 1998 hatten ca. 20 % grenzwertige Versorgungswerte [ELMADFA et al., 1998], wohingegen aus den aktuellen Daten hervorgeht, dass nur mehr 5,5 % der untersuchten Senioren leicht unversorgt waren. Vergleichswerte für Kinder und Erwachsene liegen in Österreich kaum vor. Untersuchte Erwachsene in Deutschland hatten im Mittel eine Vitamin C-Konzentration im Plasma von 76 µmol/l, Werte unter 11 µmol/l konnten ähnlich wie bei den aktuellen Ergebnissen nicht beobachtet werden [HESEKER et al., 1992]. Sie waren somit ebenso ausreichend mit Vitamin C versorgt wie die österreichischen Erwachsenen.

Fazit: Der Vitamin C-Status konnte bei 94–99,5 % der untersuchten Personen mit Vitamin C-Konzentrationen über 23 µmol/l als optimal beurteilt werden, obwohl die Aufnahmeempfehlungen im Mittel nicht immer erreicht wurden. Ein optimaler Vitamin C-Status konnte mit 74 mg/d für Kinder, 99 mg/d für Erwachsene und 86 mg/d für Senioren erreicht werden. Die Untersuchungen zeigten, dass auch eine Vitamin C-Aufnahme unter den Empfehlungen [D-A-CH, 2012] zu ausreichenden Plasmawerten führten.

### **4.3 AUSWIRKUNGEN DER AUSGEWÄHLTEN EINFLUSSFAKTOREN DES LEBENSSTIL AUF DEN STATUS DER WASSERLÖSLICHEN VITAMINE**

Die ausgewählten Einflussfaktoren auf den Status der wasserlöslichen Vitamine (Konsum von Nährstoffpräparaten, Medikamenten, Tabak und Alkohol) wurden durch den selbst auszufüllenden Fragebogen erfasst. Die Ergebnisse der Einflussfaktoren des Lebensstils beziehen sich auf den Untersuchungszeitraum und erfassen z.B. nicht ein vorhergehendes Rauchverhalten.

Fast 40 % der Studienteilnehmer gaben an, Medikamente einzunehmen, über 1/4 nahm Nährstoffsupplemente zu sich, über 1/6 rauchte und ca. 10 % gaben an, täglich

Alkohol zu trinken. Tab. 34 fasst die erhobenen Einflussfaktoren der Erwachsenen und Senioren zusammen.

**Tab. 34: Häufigkeit des Konsums von Supplementen, Medikamenten, Tabak und Alkohol im Studienkollektiv, gesamt und getrennt nach Geschlecht**

Einflussfaktoren	Studienteilnehmer (in %)								
	gesamt			weiblich			männlich		
	Ja	nein	k.A.	ja	nein	k.A.	ja	nein	k.A.
<b>Supplemente</b>	25,8	60,2	14,0	31,5	53,4	15,1	19,8	67,5	12,7
<b>Medikamente</b>	38,7	47,3	13,9	44,1	41,0	14,9	33,0	54,1	12,9
<b>Rauchen</b>	17,2	68,0	14,8	17,6	65,7	16,7	16,8	70,4	12,8
<b>Alkohol</b>	9,6	59,6	30,8	7,0	61,1	31,9	12,3	58,0	29,6

Die Einnahme von Vitaminpräparaten der Kinder wurde zusätzlich erfasst, auf die Erhebung des Konsums von Medikamenten, Tabak und Alkohol wurde verzichtet. Kinder supplementierten mit einem viel geringeren Ausmaß als Erwachsene und Senioren. Lediglich 11 % gaben an, regelmäßig Nährstoffpräparate einzunehmen.

### 4.3.1 Supplementierung

Die Einnahme von Vitaminpräparaten wurde mittels selbst auszufüllenden Fragebogen erfasst und zeigte in Übereinstimmung mit der Literatur [FABIAN et al., 2012, HESEKER et al., 1992, ITOKAWA et al., 1992, WOLTERS et al., 2005] einen deutlichen Einfluss auf den Vitaminstatus der Erwachsenen und Senioren, nicht aber der Kinder.

Durch die Einnahme von Vitaminpräparaten konnte der Status der Vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C und Folat, messbar durch höhere Nährstoffkonzentrationen im Körper und einen geringeren Stimulierungseffekt der Vitamin-abhängigen Enzyme, verbessert werden. Der FP von Vitamin B<sub>6</sub> wurde zwar durch den Konsum von Vitaminpräparaten positiv beeinflusst, die Ergebnisse waren jedoch statistisch nicht signifikant. Die Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen im Plasma wurden hingegen durch eine Supplementierung kaum verändert. Die Homocysteinkonzentrationen im Plasma wurden zwar geringfügig, von 14 µmol/l auf 13 µmol/l, verbessert, beide Werte waren dennoch über der Grenze von

12 µmol/l und zeigten ein potenziell erhöhtes Risiko für Herzkreislauferkrankungen auf [STANGER et al., 2003].

Obwohl durch die Einnahme von Vitaminpräparaten eine signifikante Statusverbesserung der Erwachsenen und Senioren festgestellt wurde, waren auch Personen welche keine Vitamine supplementierten, im Mittel optimal versorgt. Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass extrem hohe Dosen der Vitamine, weit über den Empfehlungen [D-A-CH, 2012], das Risiko für chronische Erkrankungen vermindern [MOSER, 2012] und somit einen präventiven gesundheitsfördernden Nutzen für den Menschen ausüben. Langzeitstudien fehlen, um die tatsächlichen Auswirkungen einer Supplementierung auf den Status der wasserlöslichen Vitamine zu erfassen. Risikogruppen können, wenn nicht anders möglich, durch die Einnahme von Vitaminpräparaten ihre Nährstoffkonzentrationen im Körper und die physiologischen Funktionen, welche durch eine Unterversorgung eingeschränkt werden, verbessern.

**Tab. 35: Einfluss der Nährstoffsupplementierung auf den Status der wasserlöslichen Vitamine bei Erwachsenen und Senioren (n=493)**

	Supplementierung				Signifikanz-niveau (p)	
	Ja (n=146)		Nein (n=347)			
	Mittelwert ± SD	Median (IQR)	Mittelwert ± SD	Median (IQR)		
<b>Vitamin B<sub>1</sub> (VP, nmol/mmol)</b>	123 ± 202	61 (39; 118)	73 ± 125	42 (30; 71)	<0,001	
<b>Vitamin B<sub>1</sub> (FP, α-ETK)</b>	1,17 ± 0,11	1,15 (1,09; 1,22)	1,20 ± 0,12	1,18 (1,12; 1,27)	<0,01	
<b>Vitamin B<sub>2</sub> (VP, nmol/mmol)</b>	184 ± 180	148 (48; 250)	112 ± 171	79 (40; 130)	<0,001	
<b>Vitamin B<sub>2</sub> (FP, α-EGR)</b>	1,23 ± 0,12	1,22 (1,14; 1,29)	1,28 ± 0,13	1,26 (1,19; 1,36)	<0,001	
<b>Vitamin B<sub>6</sub> (VP, nmol/l)</b>	135 ± 162	66 (47; 138)	74 ± 85	54 (38; 81)	<0,001	
<b>Vitamin B<sub>6</sub> (FP, α-EAST)</b>	1,73 ± 0,36	1,73 (1,49; 2,01)	1,77 ± 0,28	1,76 (1,57; 1,95)	0,371	
<b>Vitamin B<sub>12</sub> (pmol/l)</b>	285 ± 172	252 (158; 349)	281 ± 322	235 (182; 316)	0,367	
<b>Folat (nmol/l)</b>	21 ± 13	18 (12; 26)	16 ± 9	15 (12; 16)	<0,001	
<b>Homocystein (µmol/l)</b>	13 ± 3	13 (11; 15)	15 ± 7	14 (12; 16)	<0,01	
<b>Vitamin C (µmol/l)</b>	70 ± 20	70 (58; 86)	61 ± 20	62 (47; 75)	<0,001	

Die Auswertungen der Daten von Kindern lieferten kaum vergleichbare Ergebnisse. Eine Supplementierung übte weder einen Einfluss auf den VP noch auf den FP der

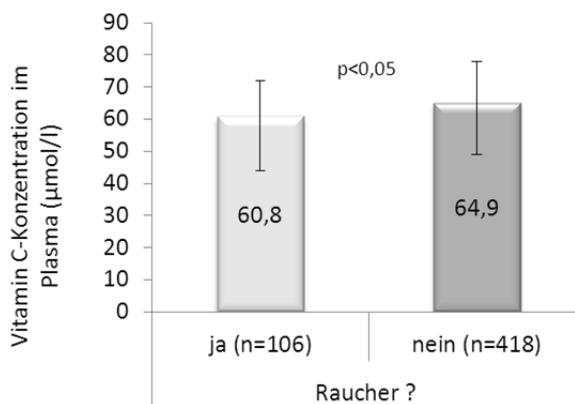
wasserlöslichen Vitamine aus. Keiner der Biomarker zeigte signifikante Unterschiede zwischen Kindern, die Vitaminpräparate einnahmen, und jenen, die keine zührten. Durch die geringe Anzahl der Kinder, welche regelmäßig Nährstoffsupplemente einnahmen, konnte vermutlich die Auswirkung einer Supplementierung statistisch nicht festgestellt werden. Zusätzlich sind Kinder durch ihre altersabhängigen physiologischen Entwicklungsunterschiede eine sehr heterogene Gruppe. Wie aus den vorliegenden Erhebungen hervorgeht, veränderten sich die Nährstoffkonzentrationen im Körper altersabhängig. Der Einfluss einer Supplementierung kann daher, durch die schon bestehenden Konzentrationsunterschiede der verschiedenen alten Kinder, kaum erfasst werden.

Die Zufuhr von mit Vitaminen angereicherten Lebensmitteln, wie z.B. Frühstückszerealien, könnte zusätzlich Verzerrungen der Auswertungen in Bezug zur Nährstoffsupplementierung verursacht haben. Die publizierten Daten von KERR et al. [2009] zeigten, dass angereicherte Lebensmittel einen sehr viel deutlicheren Einfluss auf den Vitaminstatus von Kindern und Jugendlichen ausübten als die Einnahme von Supplementen. Auch in den Erhebungen von HOEY et al. [2007] an Erwachsenen wurde eine deutliche Statusverbesserung der B-Vitamine durch den Konsum angereicherter Lebensmittel erzielt. Die Erhebung dieses Konsums könnte aufschlussreiche Ergebnisse zur Identifizierung von Einflussfaktoren auf den Status der wasserlöslichen Vitamine geben und sollte bei einem zukünftigen Monitoring der Versorgungssituation in Österreich erfasst werden.

### **4.3.2 Tabakkonsum**

In den Erhebungen der Ernährungsstudie *Österreichische Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* bejahten 18 % der Frauen und 17 % der Männer die Frage „Rauchen Sie derzeit?“. Die durchschnittlich gerauchten Zigaretten betrugen bei den weiblichen Probanden 12 Stück und den männlichen 15 Stück pro Tag [ELMADFA et al., 2012].

Der Tabakkonsum hatte, wie auch aus der Literatur bestätigt wurde [WOODSIDE et al., 2012, ASAMI et al., 1997, WEBER et al., 1996, HESEKER et al., 1992], einen negativen Einfluss auf den Vitamin C-Status der Studienteilnehmer (Abb. 25). Raucher wiesen eine um  $4,1 \mu\text{mol/l}$  geringere Vitamin C-Konzentration als Nicht-Rauchern auf ( $t(518)=-2,2$ ,  $p<0,05$ ). Dieser Unterschied war zwar statistisch signifikant und sollte in Anbetracht der durch den Tabakkonsum zusätzlich verursachten gesundheitlichen Risikofaktoren beachtet werden [WHO, 2011], allerdings hatten Raucher mittlere Plasmawerte von  $61 \mu\text{mol/l}$  und waren optimal ( $>23 \mu\text{mol/l}$ ) mit Vitamin C versorgt. Raucher wie auch Nicht-Raucher wiesen somit einen sehr guten Vitamin C-Status auf.



**Abb. 25: Einfluss des Tabakkonsums auf den Vitamin C-Status bei Erwachsenen und Senioren**

Der Tabakkonsum hatte keinen signifikanten Einfluss auf den Status der B-Vitamine, weder bewertet durch den VP noch durch den FP. In Anlehnung an die Literatur konnte in dem Studienkollektiv nur die Auswirkung des Rauchverhaltens auf die Vitamin C-Versorgung [WOODSIDE et al., 2012], nicht aber auf die Versorgung der B-Vitamine [GARIBALLA und FORSTER, 2009, PRESTON, 1991] bestätigt werden.

#### 4.3.3 Medikamenteneinnahme

Die Hypothese eines schlechten Vitaminstatus, verursacht durch regelmäßige Medikamenteneinnahme [HEUBERGER und CAUDELL, 2011], konnte in dem Studienkollektiv nicht bestätigt werden (siehe Abb. 36).

**Tab. 36: Einfluss der Medikamenteneinnahme auf den Status der wasserlöslichen Vitamine bei Erwachsenen und Senioren (n=494)**

	Medikamente ?				Signifikanz-niveau (p)	
	Ja (n=213)		Nein (n=281)			
	Mittelwert ± SD	Median (IQR)	Mittelwert ± SD	Median (IQR)		
<b>Vitamin B<sub>1</sub> (VP, nmol/mmol)</b>	119 ± 187	52 (38; 100)	56 ± 47	42 (28; 70)	<0,001	
<b>Vitamin B<sub>1</sub> (FP, α-ETK)</b>	1,19 ± 0,11	1,18 (1,10; 1,24)	1,19 ± 0,11	1,17 (1,11; 1,26)	0,837	
<b>Vitamin B<sub>2</sub> (VP, nmol/mmol)</b>	159 ± 216	104 (50; 186)	111 ± 113	78 (39; 143)	<0,01	
<b>Vitamin B<sub>2</sub> (FP, α-EGR)</b>	1,22 ± 0,11	1,21 (1,15; 1,30)	1,29 ± 0,13	1,27 (1,20; 1,37)	<0,001	
<b>Vitamin B<sub>6</sub> (VP, nmol/l)</b>	113 ± 157	58 (39; 94)	72 ± 56	56 (38; 87)	0,486	
<b>Vitamin B<sub>6</sub> (FP, α-EAST)</b>	1,72 ± 0,34	1,70 (1,50; 1,94)	1,80 ± 0,27	1,78 (1,60; 1,97)	<0,01	
<b>Vitamin B<sub>12</sub> (pmol/l)</b>	304 ± 391	244 (167; 345)	263 ± 149	230 (173; 301)	0,416	
<b>Folat (nmol/l)</b>	18 ± 11	15 (10; 22)	18 ± 10	16 (12; 22)	0,355	
<b>Homocystein (μmol/l)</b>	14 ± 4	13 (11; 16)	15 ± 7	14 (11; 16)	0,734	
<b>Vitamin C (μmol/l)</b>	66 ± 22	67 (52; 79)	62 ± 19	62 (48; 74)	<0,05	

Eine weitere Investigation und Identifikation der eingenommenen Medikamente könnte konkretere Aussagen liefern. Die unabhängige Rolle der Medikamenteneinnahme auf den Ernährungszustand konnte somit nicht identifiziert werden [JYRKÄ et al., 2012].

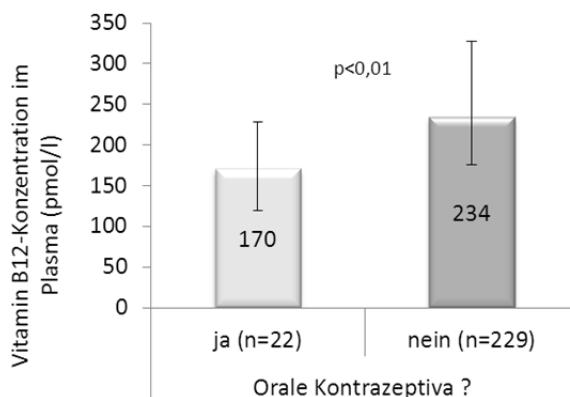
### Orale Kontrazeptiva

Die Einnahme oraler Kontrazeptiva wurde nur bei den Erwachsenen Frauen ausgewertet, 22 von 251 Frauen gaben an eine hormonelle Verhütungsmethode anzuwenden. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Studien [LUSSANA et al., 2004, SÜTTERLIN et al., 2003, BRATTSTROM et al., 1992, HESEKER et al., 1992] scheint der Vitamin B<sub>12</sub>-Gehalt im Plasma bei der Einnahme oraler Kontrazeptiva deutlich verringert zu sein ( $U=1657$ ,  $Z=-2,6$ ,  $p<0,01$ ), der Status der Vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C und Folat wurde jedoch nicht beeinflusst [THANE et al., 2002, GREEN et al., 1998, WEBB, 1980, JOSHI et al., 1975].

Die Einnahme oraler Kontrazeptiva beeinträchtigt zwar die Transportproteine (TC I und TC III) und verringert somit die Vitamin B<sub>12</sub>-Plasmakonzentrationen, sie scheint jedoch nicht die Körperkonzentrationen zu beeinflussen [SHOJANIA und WYLIE, 1979].

Außerdem hatten Frauen die

orale Kontrazeptiva verwendeten, Plasmawerte von 170 pmol/l und konnten somit ihren Vitamin B<sub>12</sub>-Bedarf optimal decken (>147 pmol/l). In einzelnen Fällen sollten Vitamin B<sub>12</sub>-haltige Lebensmittel vorrangig konsumiert werden.



**Abb. 26: Einfluss von oralen Kontrazeptiva auf den Vitamin B<sub>12</sub>-Status bei Frauen**

#### 4.3.4 Alkoholkonsum

Ca. 10 % der Probanden gaben an täglich Alkohol zu konsumieren. Die aufgenommene Alkoholmenge wurde aus den zwei aufeinanderfolgenden 24h-Recalls erfragt und in g Alkohol pro Tag berechnet. Die durchschnittliche Alkoholaufnahme des Studienkollektivs betrug  $2,8 \pm 4,1$  g/d, lediglich 3,9 % der untersuchten Personen nahmen mehr als die gesundheitsverträglich eingestufte Menge von 10 g/d auf, und nur 0,8 % mehr als 20 g/d. Aufgrund der geringen Anzahl der untersuchten Personen welche eine große Menge Alkohol konsumierten, konnte der Einfluss des Alkoholkonsums auf den Status der wasserlöslichen Vitamine kaum beurteilt werden. Ein Zusammenhang zwischen der konsumierten Alkoholmenge und den untersuchten Biomarkern konnte nur bei Vitamin B<sub>2</sub> beobachtet werden, mit einer inversen Korrelation zwischen der Riboflavinausscheidung über den Harn und der aufgenommenen Alkoholmenge ( $r_s=-0,2$ ,  $p<0,001$ ). Die restlichen B-Vitamine sowie Vitamin C korrelierten nicht mit der Alkoholzufuhr.

Dennoch zeigte sich in der Literatur, dass ein hoher Alkoholkonsum gerade bei einer geringen Nährstoffzufuhr den Status der wasserlöslichen Vitamine negativ beeinflussen kann und somit eine höhere Aufnahme notwendig ist, um den Bedarf zu decken [MIYAZAKI et al., 2012, SAID, 2011, LEMOS et al., 2005, VAN DEN BERG et al., 2002, HESEKER et al., 1992]. Da die Probanden, welche mehr als 10–20 g/d Alkohol konsumierten, einen guten Vitaminstatus aufwiesen, kann davon ausgegangen werden, dass eine adäquate Menge an wasserlöslichen Vitaminen aufgenommen wurde.

## **5 SCHLUSSFOLGERUNG**

Die Versorgungssituation der wasserlöslichen Vitamine der österreichischen Kinder, Erwachsenen und Senioren ist durchwegs positiv zu bewerten, gerade die kurzfristige Versorgungssituation scheint besonders gut zu sein. In einzelnen Fällen sollte die längerfristige Versorgung mit Vitamin B<sub>1</sub>, Vitamin B<sub>2</sub> und Vitamin B<sub>6</sub> beachtet werden. Bei einer individuell erhöhten Energie- bzw. Proteinzufuhr, sollte die Aufnahme von Vitamin B<sub>1</sub>, Vitamin B<sub>2</sub> und Vitamin B<sub>6</sub> angepasst werden, um den erhöhten Nährstoffbedarf zu decken. Der Status an Folat und Vitamin B<sub>12</sub> zeigte höhere Prävalenzzahlen niedriger Messwerte bei Senioren im Vergleich zu Erwachsenen und Kindern. Die Vitamin C-Versorgung konnte hingegen bei allen untersuchten Bevölkerungsgruppen als äußerst zufriedenstellend eingestuft werden.

Der Vitaminstatus zwischen den Bevölkerungsgruppen variierte deutlich und zeigte, dass Kinder bei fast allen untersuchten Vitaminen höhere Nährstoffkonzentrationen im Körper aufwiesen als Erwachsene oder Senioren. Die Notwendigkeit von altersspezifischen Referenzwerten zur Statusbeurteilung wurde somit hervorgehoben.

Auffallend war, dass nur in Einzelfällen eindeutige geschlechtsspezifische Unterschiede der Laborbefunde, bewertet durch den Versorgungs- und den Funktionsparameter, identifiziert werden konnten. Die männlichen Studienteilnehmer benötigten jedoch aufgrund ihres höheren Energieumsatzes größere Aufnahmemengen als die weiblichen, um ihren Nährstoffbedarf zu decken.

Obwohl die Zufuhrempfehlungen [D-A-CH, 2012] teilweise über den Empfehlungen anderer Ernährungsorganisationen [NRC, 2006, WHO/FAO, 2004, NNR, 2004, SCF, 1993] liegen, sind sie in ihrer Menge angemessen, um den Nährstoffbedarf der wasserlöslichen Vitamine in den untersuchten Bevölkerungsgruppen zu decken. Die überarbeiteten Aufnahmeempfehlungen für Folat [D-A-CH, 2013] wurden durch die in

der vorliegenden Studie erhobenen Laborwerte festgelegt. Sie liefern eine wichtige Grundlage für lebensmittelbasierte Empfehlungen. Es wurde deutlich, dass Homocystein kein folatspezifischer Biomarker ist und daher nur mit Vorbehalt für die Interpretation des Folatstatus herangezogen werden sollte. Die Folataufnahme von ca. 200 µg/d für Erwachsene und Senioren sowie ca. 160 µg/d für Kinder war im untersuchten Studienkollektiv ausreichend um den Folatbedarf zu decken. Es kann davon ausgegangen werden, dass bei den überarbeiteten Empfehlungen von 300 µg/d für Erwachsene und Senioren und 180–300 µg/d für Kinder zwischen 7–14 Jahren eine optimale Folatversorgung gewährleistet wird.

Eine positive Entwicklung der Versorgungssituation mit sinkenden Prävalenzzahlen einer Vitaminunterversorgung wurde in Österreich seit 1998 [ELMADFA et al., 1998] beobachtet. Da jedoch nur exemplarische Erhebungen der Biomarker an Kindern und Senioren durchgeführt wurden, konnte eine flächendeckende Entwicklung nicht beschrieben werden.

Es konnte gezeigt werden, dass verschiedene Lebensstilfaktoren den Status der wasserlöslichen Vitamine beeinflussen. Der Vitamin C-Status wurde durch den Konsum von Tabak, der Vitamin B<sub>12</sub>-Status durch den Konsum von oralen Kontrazeptiva bei Frauen und der Vitamin B<sub>2</sub>-Status durch den Konsum von Alkohol negative beeinflusst. Eine Nährstoffsupplementierung bei Erwachsenen und Senioren zeigte hingegen positive Auswirkungen auf die Nährstoffkonzentrationen im Körper und den Stimulierungseffekt der Vitamin-abhängigen Enzyme.

## 5.1 LIMITATIONEN

Wie bei den meisten Studien ergaben sich auch bei der vorliegenden einige Limitationen.

Obwohl Biomarker objektive Messmethoden zur Statusbeurteilung darstellen, haben sie auch einige Einschränkungen [BINGHAM, 2002]. Beispielsweise konnte bei den kreatininbezogenen Messwerten im Spontanharn kein Vergleich zwischen den

Altersgruppen oder den Geschlechtern getroffen werden. Die Erfassung des Nährstoffgehaltes im 24h-Harn wäre bei dieser Gegenüberstellung sinnvoller. Je nach verwendetem Biomarker kann entweder nur auf die kurz- oder längerfristige Versorgungssituation geschlossen werden. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Studie für einen Nährstoff meist zwei Biomarker zur Statusbeurteilung herangezogen. Aus budgetären Gründen war dies jedoch nicht bei allen Nährstoffen möglich oder sinnvoll (z.B.: Vitamin C).

Vergleiche mit Ergebnissen aus anderen Studien sind durch die verwendete analytische Methodik und durch die daraus resultierenden Referenzwerte für die Statusinterpretation, nur bedingt möglich.

Das Fehlen altersentsprechender Referenzwerte für Kinder unterstreicht wiederum die Limitationen der Statusinterpretation für diese Bevölkerungsgruppe.

Durch die komplexe Interaktion von Ernährung, Umwelt, Genetik und Lebensstil ist es schwierig, potenzielle Einflussfaktoren auf den Status der wasserlöslichen Vitamine und somit Rückschlüsse auf die Ursache-Wirkung-Kette zu erfassen. Beispielsweise konnte die genetische Komponente zusätzlich zu weiteren Lebensstil- und Umweltfaktoren in den Erhebungen nicht berücksichtigt werden.

Mögliche Selektionsbias können aufgrund der freiwilligen Teilnahme an der *Österreichischen Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* nicht ausgeschlossen werden.

### 5.2 AUSBLICK

Da es in Österreich für die wasserlöslichen Vitamine verschiedener Bevölkerungsgruppen keine flächendeckende und fortlaufende Berichterstattung der biochemischen Befunde gibt, ist es schwierig, Trends aufzuzeigen. Eine erste Grundlage für zukünftige Erhebungen wurde somit durch die vorliegende Arbeit geschaffen.

Obwohl die Laborbefunde für Vitamin B<sub>1</sub> und Vitamin B<sub>2</sub> keine kritische Versorgungslage aufzeigten, sollte die längerfristige Bedarfsdeckung in zukünftigen Erhebungen beobachtet werden. Um konkretere Aussage über den Vitamin B<sub>6</sub>-Status treffen zu können, sollte ein weiteres Monitoring der Vitamin B<sub>6</sub>-Versorgung in Österreich erfolgen. Eine Validierung der PLP-Plasmakonzentration als Biomarker zur Vitamin B<sub>6</sub>-Statusbeurteilung könnte aufschlussreiche Ergebnisse liefern. Die Bevölkerungsgruppe der Senioren schien ein geringfügig höheres Risiko einer Unterversorgung an Vitamin B<sub>12</sub> und Folat zu haben, sie sollten vermehrt vitamin B<sub>12</sub>- und folathaltige Lebensmitteln verzehren. In Hinblick auf die gesundheitlichen Auswirkungen einer Hyperhomocysteinämie, sollten im untersuchten Studienkollektiv die Homocysteinwerte der Erwachsenen und Senioren von durchschnittlich 13–15 µmol/l beobachtet werden.

Die zukünftige einheitliche Anwendung von nährstoffspezifischen Biomarkern zur Statusbeurteilung der wasserlöslichen Vitamine sowie deren Referenzwerte sollten weiter forciert werden, da nur durch sie fundierte Aussagen über den Nährstoffbedarf und damit Empfehlungen der Nährstoffaufnahme getroffen werden können. Gerade für die Bevölkerungsgruppe der Kinder ist es notwendig Cut-Offs zu etablieren, um ihren Nährstoffstatus bestmöglich interpretieren zu können.

## **6 ZUSAMMENFASSUNG**

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Erfassung des Status der wasserlöslichen Vitamine (Vitamin C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> und Folat) in der österreichischen Bevölkerung anhand spezifischer Biomarker, deren Interpretation und die Diskussion der aktuell gültigen Referenzwerte in Österreich [D-A-CH, 2012]. Zusätzlich wurden ausgewählte Einflussfaktoren des Lebensstils und deren Auswirkung auf den Status der wasserlöslichen Vitamine bestimmt.

Die vorliegenden Daten stammen aus einer Querschnittsstudie, die im Rahmen der *Österreichischen Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* vom *Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Wien* im Auftrag des *Bundesministeriums für Gesundheit* durchgeführt wurde. Insgesamt nahmen 1002 Personen (387 Kinder, 419 Erwachsene und 196 Senioren) an der Studie teil. Die Nährstoffversorgung wurde aus Blut- und Harnproben durch spezifische Biomarker erfasst. 24h-Recalls für Erwachsene und Senioren und 3-Tagesschätzprotokolle für Kinder wurden angewandt, um die Nährstoffaufnahme der wasserlöslichen Vitamine zu ermitteln. Zusätzliche Einflussfaktoren auf den Vitaminstatus wurden durch einen Fragebogen identifiziert.

Die Prävalenz niedriger Messwerte war bei den Kindern relativ gering, sie betrug für die meisten wasserlöslichen Vitamine zwischen 0–12 %. Ihre im Vergleich zu den Erwachsenen und den Senioren durchwegs höheren Nährstoffkonzentrationen im Körper unterstreichen die Notwendigkeit altersspezifischer Referenzwerte zur Statusinterpretation. Die Prävalenz einer Unterversorgung der wasserlöslichen Vitamine betrug für Erwachsene 1–22 % und für Senioren 1–24 %. Gerade die kurzfristige Versorgungssituation war jedoch besonders gut. Die Zufuhrempfehlungen [D-A-CH, 2012] sind in ihrer Menge angemessen, um den Nährstoffbedarf der wasserlöslichen Vitamine in den untersuchten Bevölkerungsgruppen zu decken. Lediglich die empfohlene Folatzufuhr [D-A-CH, 2012] war unrealistisch hoch, da auch

mit geringeren Zufuhrmengen ein guter Folatstatus gewährleistet werden konnte. Der Konsum von Tabak, Alkohol und oralen Kontrazeptiva beeinflusste den Status von Vitamin C, Vitamin B<sub>2</sub> und Vitamin B<sub>12</sub> negativ, wohingegen eine Supplementierung sich positiv auf die Nährstoffkonzentrationen im Körper und den Stimulierungseffekt der vitaminabhängigen Enzyme auswirkte.

Eine einheitliche Anwendung von nährstoffspezifischen Biomarkern zur Statusbeurteilung der wasserlöslichen Vitamine sowie deren Referenzwerte sollte weiter forcierter werden, da nur durch sie fundierte Aussagen über den Nährstoffbedarf und damit Empfehlungen der Nährstoffaufnahme getroffen werden können.

## **7 ABSTRACT**

The aim of the present study was to assess the status of water-soluble vitamins (vitamin C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> and folate) in the Austrian population, using specific biomarkers, their interpretation and discussion of the currently valid reference values in Austria [D-A-CH 2012]. In addition, certain factors of lifestyle and its effects on the status of water-soluble vitamins were determined.

The data was collected from a cross-sectional study. It was conducted as part of the *Österreichische Studie zum Ernährungsstatus 2010/2012* by the *Institute of Nutritional Sciences* at the *University of Vienna* on behalf of the *Federal Ministry of Health*. A total of 1002 people participated (387 children, 419 adults and 196 elderly) in the study. The nutrient supply was detected from blood and urine samples by specific biomarkers. 24-h-recalls for adults and seniors and 3-day estimate protocols for children were used to determine the nutrient intake of water soluble vitamins. Additional anthropometric measurements and a questionnaire helped to identify influencing factors on the nutrient status.

The prevalence of inadequate vitamin status was relatively low in children (0–12 %). They had compared to adults and seniors consistently higher concentrations of nutrients in their body. The need for age-specific reference values for status interpretation arises. 1–22 % of adults and 1–24 % of elderly had a poor water-soluble vitamin status. However, the short-term supply was particularly good. In quantity the recommended nutrient intake [D-A-CH, 2012] seems adequate to meet the nutrient requirement of water-soluble vitamins in the population studied. Only folate intake should be revised. The consumption of tobacco, alcohol and oral contraceptives influenced the status of vitamin C, vitamin B<sub>2</sub> and vitamin B<sub>12</sub> negatively, whereas a positive effect was found by supplementation on nutrient concentrations in the body and the activity of vitamin-dependent enzymes.

Standardized and harmonized biomarkers, laboratory methods and reference values for status assessment of water-soluble vitamins should be established as sound statements about the nutritional requirements, and thus nutrient intake recommendations can only be made by them.

## **8 LITERATUR**

- AISEN PS, SCHNEIDER LS, SANO M, DIAZ-ARRASTIA R, VAN DYCK CH, WEINER MF, BOTTIGLIERI T, JIN S, STOKES KT, THOMAS RG, THAL LJ. High-dose B vitamin supplementation and cognitive decline in Alzheimer disease: A randomized controlled trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association* 2008; 300: 1774-1783.
- AL AISARI F, AL-HASHMI H, MULA-ABED WA. Comparison between Serum Holotranscobalamin and Total Vitamin B12 as Indicators of Vitamin B12 Status. *Oman Medical Journal* 2010; 25: 9-12.
- ALLEN LH. How common is vitamin B-12 deficiency? 1-3. *American Journal of Clinical Nutrition* 2009; 89: 693S-696S.
- ANDRÈS E, LOUKILI NH, NOEL E, KALTENBACH G, BEN ABDELGHENI M, PERRIN AE, NOBLET-DICK M, MALOISEL F, SCHLIEGER JL, BLICKLÉ JF. Vitamin B 12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *Canadian Medical Association Journal* 2004; 171: 251-259.
- ARAKI A, SAKO Y. Determination of free and total homocysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography - Biomedical Applications* 1987; 422: 43-52.
- ARIAEY-NEJAD MR, BALAGHI M, BAKER EM, SAUBERLICH HE. Thiamin metabolism in man. *American Journal of Clinical Nutrition* 1970; 23: 764-778.
- ASAMI S, MANABE H, MIYAKE J, TSURUDOME Y, HIRANO T, YAMAGUCHI R, ITOH H, KASAI H. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1763-1766.
- BAIK HW, RUSSELL RM. Vitamin B12 deficiency in the elderly. *Annual Review of Nutrition*, 1999: 357-377.
- BAILEY RL, CARMEL R, GREEN R, PFEIFFER CM, COGSWELL ME, OSTERLOH JD, SEMPOS CT, YETLEY EA. Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United

- States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12. American Journal of Clinical Nutrition 2011; 94: 552-61.
- BAMJI MS. Glutathione reductase activity in red blood cells and riboflavin nutritional status in humans. Clinica Chimica Acta 1969; 26: 263-269.
- BÄSSLER KH. Use and abuse of high dosages of vitamin B6. International journal for vitamin and nutrition research. Supplement = Internationale Zeitschrift fur Vitamin- und Ernahrungsorschung. Supplement 1989; 30: 120-126.
- BETTENDORFF L, WINS P. Thiamin diphosphate in biological chemistry: New aspects of thiamin metabolism, especially triphosphate derivatives acting other than as cofactors. FEBS Journal 2009; 276: 2917-2925.
- BEUTLER E. Effect of flavin compounds on glutathione reductase activity: in vivo and in vitro studies. Journal of Clinical Investigation 1969; 48: 1957-1966.
- BIESALSKI HK. Antioxidative Vitamine in der Prävention. Deutsche Ärzteblatt 1995; 92: B979-B983.
- BINGHAM SA. Biomarkers in nutritional epidemiology. Public Health Nutrition 2002; 5: 821-827.
- BITSCH R. Vitamin B6. International Journal for Vitamin and Nutrition Research 1993; 63: 278-282.
- BODE C, BODE JC. Alcohol and intestine. Alkohol und Darm 2000; 18: 247-253.
- BOEHRINGER MANNHEIM GMBH DIAGNOSTICA. Arbeitsanleitung. Kreatininbestimmung. Test-Combination Creatinin. Februar 1991.
- BOISVERT WA, CASTANEDA C, MENDOZA I, LANGLOH G, SOLOMONS NW, GERSHOFF SN, RUSSELL RM. Prevalence of riboflavin deficiency among Guatemalan elderly people and its relationship to milk intake. American Journal of Clinical Nutrition 1993; 58: 85-90.
- BOR MV, REFSUM H, BISP MR, BLEIE Å, SCHNEEDE J, NORDREHAUG JE, UELAND PM, NYGARD OK, NEXÅ, E. Plasma vitamin B6 vitamers before and after oral vitamin B6 treatment: A randomized placebo-controlled study. Clinical Chemistry 2003; 49: 155-161.

- BOR MV, VON CASTEL-ROBERTS KM, KAUWELL GP, STABLER SP, ALLEN RH, MANEVAL DR, BAILEY LB, NEXO E. Daily intake of 4 to 7 µg dietary vitamin B-12 is associated with steady concentrations of vitamin B-12-related biomarkers in a healthy young population. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 571-7.
- BOWLING FG. Pyridoxine supply in human development. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 2011; 22: 611-618.
- BRATTSTROM L, ISRAELSSON B, OLSSON A, ANDERSSON A, HULTBERG B. Plasma homocysteine in women on oral oestrogen-containing contraceptives and in men with oestrogen-treated prostatic carcinoma. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 1992; 52: 283-287.
- BROWN RR. The tryptophan load test as an index of vitamin B-6 nutrition. In: *Methods in Vitamin B-6 Nutrition*. New York: Plenum Press, 1981.
- BRUSSAARD JH, LÄWIK MRH, VAN DEN BERG H, BRANTS HAM, BEMELMANS W. Dietary and other determinants of vitamin B6 parameters. *European Journal of Clinical Nutrition* 1997; 51: 39-45.
- BÜHL A. SPSS 20. Einführung in die moderne Datenanalyse. 13. Auflage. München, Deutschland: Pearson Deutschland GmbH, 2012.
- CANDITO M, BEDOUCHA P, GIBELIN P, JAMBOU D, DE FRANCHIS R, SADOUL JL, CHATEL M, VAN OBBERGHEN E. Fasting, postprandial, and post-methionine-load homocysteinaemia and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in vascular disease. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 1999; 22: 588-592.
- CAPO-CHICHI CD, GUÃANT JL, FEILLET F, NAMOUR F, VIDAILHET M. Analysis of riboflavin and riboflavin cofactor levels in plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 2000; 739: 219-224.
- CARMEL R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Annual Review of Medicine* 2000: 357-375.
- CARR AC, FREI B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 1999; 69: 1086-1107.

- CAUCI S, DI SANTOLO M, CULHANE JF, STEL G, GONANO F, GUASCHINO S. Effects of third-generation oral contraceptives on high-sensitivity C-reactive protein and homocysteine in young women. *Obstetrics and Gynecology* 2008; 111: 857-864.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Second National Report on Biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the U.S. Population. , 2012. [http://www.cdc.gov/nutritionreport/pdf/Nutrition\\_Book\\_complete508\\_final.pdf#zoom=100](http://www.cdc.gov/nutritionreport/pdf/Nutrition_Book_complete508_final.pdf#zoom=100) (bezogen am 08.01.2013).
- CHANARIN I, METZ J. Diagnosis of cobalamin deficiency: The old and the new. *British Journal of Haematology* 1997; 97: 695-700.
- CHANG SJ, HSIAO LJ, LEE YC, HSUEN SY. Vitamin B6 status assessment in relation to dietary intake in high school students aged 16-18 years. *British Journal of Nutrition* 2007; 97: 764-769.
- CHIANG PK, GORDON RK, TAL J, ZENG GC, DOCTOR BP, PARDHASARADHI K, MCCANN PP. S-Adenosylmethionine and methylation. *FASEB Journal* 1996; 10: 471-480.
- CHING SYL, PRINS AW, BEILBY JP. Stability of ascorbic acid in serum and plasma prior to analysis. *Annals of Clinical Biochemistry* 2002; 39: 518-520.
- CLARKE R. Dose-dependent effects of folic acid on blood concentrations of homocysteine: A meta-analysis of the randomized trials. *American Journal of Clinical Nutrition* 2005; 82: 806-812.
- CROSS CE, TRABER M, EISERICH J, VAN DER VLIET A. Micronutrient antioxidants and smoking. *British Medical Bulletin* 1999; 55: 691-704.
- CYLWIK B, NAKLICKI M, GRUSZEWSKA E, SZMITKOWSKI M, CHROSTEK L. The distribution of serum folate concentration and red blood cell indices in alcoholics. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 2013; 59: 1-8.
- D-A-CH. Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung. Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Neustadt an der Weinstraße: Neuer Umschau-Buchverlag, 2012.

D-A-CH. Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung. Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr Folat. Neustadt an der Weinstraße: Neuer Umschau-Buchverlag, 1. Auflage, 5. korrigierter Nachdruck 2013.  
<http://www.dge.de/pdf/ws/Referenzwerte-2013-Folat.pdf> (bezogen am 28.06.2013)

DARBY WJ, BRIDGFORTH EB, LE BROCQUY J, CLARK JR SL, DE OLIVEIRA JD, KEVANY J, MCGANITY WJ, PEREZ C. Vitamin B12 requirement of adult man. *The American Journal of Medicine* 1958; 25: 726-732.

DE WALS P, TAIROU F, VAN ALLEN MI, UH SH, LOWRY RB, SIBBALD B, EVANS JA, VAN DEN HOF MC, ZIMMER P, CROWLEY M, FERNANDEZ B, LEE NS, NIYONSENGA T. Reduction in neural-tube defects after folic acid fortification in Canada. *New England Journal of Medicine* 2007; 357: 135-142.

DRI. Dietary Reference Intakes: for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin and Choline. Institute of Medicine. Washington, 1998.

DURGA J, VAN BOXTEL MP, SCHOUTEN EG, KOK FJ, JOLLES J, KATAN MB, VERHOEF P. Effect of 3-year folic acid supplementation on cognitive function in older adults in the FACIT trial: a randomised, double blind, controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 208-216.

EFSA. European Food Safety Authority. Tolerable Upper Intake Levels for Vitamins and Minerals, 2006.  
<http://www.efsa.europa.eu/en/ndatopics/docs/ndatolerableuil.pdf> (bezogen am 12.12.2012).

ELMADFA I, BURGER P, KÖNIG J, DERNDORFER E, KIEFER I, KUNZE M, LEIMÜLLER G, MAMAFI M, MECL HR, PAPATHANASIOU V, RUST P, VOJIR F, WAGNER KH, ZARFL B. Österreichischer Ernährungsbericht 1998. Wien, 1998.

- ELMADFA I, FREISLING H, KÖNIG J, BLACHFELNER J, CVITKOVICH-STEINER H, GENSER D, GROSSGUT R, HASSAN-HAUSER C, KICHLER R, KUNZE M et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2003. 1. Auflage. Wien, 2003.
- ELMADFA I, FREISLING H, NOWAK V, HOFSTÄDTER D, HASENEGGER V, FERGE M, FRÖHLER M, FRITZ K, MEYER AL, PUTZ P et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2008. Wien, 2009.
- ELMADFA I, GODINA-ZARFL B, GRUBER B, KÖNIG J, MAYER B, HORACEK C, DICHTL M, SZALLAI M, RÜTZLER H, KLOIMÜLLER I, BRANDTNER D, ERTL-HUEMER C. 1. Wiener Ernährungsbericht. WHO-Projekt: Wien - Gesunde Stadt. Wien: Astoria Druck, 1994.
- ELMADFA I, HASENEGGER V, WAGNER K, PUTZ P, WEIDL NM, WOTTAWA D, KUEN T, SEIRINGER G, MEYER AL, STURTZEL B et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2012. 1. Auflage. Wien, 2012.
- ELMADFA I, LEITZMANN C. Ernährung des Menschen. 4. Auflage. Stuttgart: Eugen Ulmer, 2004.
- ELMADFA I, MAJCHRZAK D, RUST P, GENSER D. The thiamine status of adult humans depends on carbohydrate intake. International Journal for Vitamin and Nutrition Research 2001; 71: 217-221.
- ELMADFA I, MEYER A, NOWAK V, HASENEGGER V, PUTZ P, VERSTRAETEN R, REMAUT-DEWINTER AM, KOLSTEREN P, DOSTALOVA J, DLOUHY P et al. European Nutrition and Health Report 2009. Ann Nutr Metab 2009; 2: 1-40. ELMADFA I, et al. Österreichischer Ernährungsbericht 1998. Wien, 1998.
- ELMADFA I, SINGER I. Vitamin B-12 and homocysteine status among vegetarians: A global perspective. American Journal of Clinical Nutrition 2009; 89: 1693S-1698S.
- FABIAN E, BOGNER M, KICKINGER A, WAGNER KH, ELMADFA I. Vitamin status in elderly people in relation to the use of nutritional supplements. Journal of Nutrition, Health and Aging 2012; 16: 206-212.

- FABIAN E, KICKINGER A, WAGNER KH, ELMADFA I. Homocysteine and asymmetric dimethylarginine in relation to B vitamins in elderly people. *Wiener Klinische Wochenschrift* 2011; 123: 496-501.
- FERRARI P, SLIMANI N, CIAMPI A, TRICHOPOULOU A, NASKA A, LAURIA C, VEGLIA F, BUENO-DE-MESQUITA HB, OCKÉ MC, BRUSTAD M et al. Evaluation of under- and overreporting of energy intake in the 24-hour diet recalls in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Public Health Nutrition* 2002; 5: 1329-1345.
- FIELD A. *Discovering Statistics Using SPSS*. London: SAGE Publications, 2005.
- FOLSOM AR, NIETO FJ, MCGOVERN PG, TSAI MY, MALINOW MR, ECKFELDT JH, HESS DL, DAVIS CE. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: The atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Circulation* 1998; 98: 204-210.
- FORD AH, ALMEIDA OP. Effect of homocysteine lowering treatment on cognitive function: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Alzheimer's Disease* 2012; 29: 133-149.
- FUKUWATARI T, SHIBATA K. Urinary water-soluble vitamins and their metabolite contents as nutritional markers for evaluating vitamin intakes in young Japanese women. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 2008; 54: 223-229.
- GARIBALLA S, FORSTER S. Effects of smoking on nutrition status and response to dietary supplements during acute illness. *Nutrition in Clinical Practice* 2009; 24: 84-90.
- GENSER D. Food and drug interaction: Consequences for the nutrition/health status. *Annals of Nutrition and Metabolism* 2008; 52: 29-32.
- GERSTER H. No contribution of ascorbic acid to renal calcium oxalate stones. *Annals of Nutrition and Metabolism* 1997; 41: 269-282.
- GIBSON RS. *Principles of Nutritional Assessment*. New York: Oxford University Press, 2005.

- GIOVANNUCCI E. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: A review. *Journal of Nutrition* 2002; 132: 2350S-2355S.
- GOLDBERG GR, BLACK AE, JEBB SA, COLE TJ, MURGATROYD PR, COWARD WA, PRENTICE AM. Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. *European Journal of Clinical Nutrition* 1991; 45: 569-581.
- GREEN TJ, HOUGHTON LA, DONOVAN U, GIBSON RS, O'CONNOR DL. Oral contraceptives did not affect biochemical folate indexes and homocysteine concentrations in adolescent females. *Journal of the American Dietetic Association* 1998; 98: 49-55.
- GREGORY III JF, SWENDSEID ME, JACOB RA. Urinary excretion of folate catabolites responds to changes in folate intake more slowly than plasma folate and homocysteine concentrations and lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. *Journal of Nutrition* 2000; 130: 2949-2952.
- GUILLAND JC, COSTA DE CARVALHO MJ, MOREAU D, BOGGIO V, LHUISSIER M, FUCHS F. Interrelationships of alcohol intake with blood vitamin status in nonalcoholic subjects. *Nutrition Research* 1994; 14: 1317-1330.
- HABER P. Leitfaden zur medizinischen Trainingsberatung. Wien: Springer-Verlag, 2009.
- HAMFELT A, SODERHJELM L, MIKAELSSON G. Plasma pyridoxal phosphate in women taking oral contraceptives since at least five years. *Upsala Journal of Medical Sciences* 1984; 89: 285-286.
- HANKEY GJ. Nutrition and the risk of stroke. *The Lancet Neurology* 2012; 11: 66-81.
- HANSEN CM, LEKLEM JE, MILLER LT. Changes in vitamin B-6 status indicators of women fed a constant protein diet with varying levels of vitamin B-6. *American Journal of Clinical Nutrition* 1997; 66: 1379-87.
- HARRISON RJ. Vitamin B12 levels in erythrocytes in anaemia due to folate deficiency. *British Journal of Haematology* 1971; 20: 623-628.
- HARTMANN BM, BELL S, VÁSQUEZ CAICEDO AL, GÖTZ A, ERHARDT J, BRO B. Der Bundeslebensmittleschlüssel (BLS) - German Nutrient Data Base, Version II.3.1. Karlsruhe: Federal Research Centre for Nutrition and Food (BfEL), 2005.

- HERBERT V, FONG W, GULLE V, STOPLER T. Low holotranscobalamin II is the earliest serum marker for subnormal vitamin B 12 (cobalamin) absorption in patients with AIDS. *American Journal of Hematology* 1990; 34: 132-139.
- HERBERT V. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin B-12 in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 1987; 45: 671-678.
- HERRMANN W, SCHORR H, OBEID R, GEISEL J. Vitamin B-12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations, and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *American Journal of Clinical Nutrition* 2003; 78: 131-136.
- HESEKER H, SCHNEIDER R, MOCH KJ, KOHLMEIER M, KÜBLER W. Vitaminversorgung Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland, VERA-Schrifreihe Bd. IV. Niederkleen: Fachverlag Dr. Fleck, 1992.
- HEUBERGER RA, CAUDELL K. Polypharmacy and nutritional status in older adults: A cross-sectional study. *Drugs and Aging* 2011; 28: 315-323.
- HEYMSFIELD SB, ARTEAGA C, McMANUS CM, SMITH J, MOFFITT S. Measurement of muscle mass in humans: Validity of the 24-hour urinary creatinine method. *American Journal of Clinical Nutrition* 1983; 37: 478-494.
- HIN H, CLARKE R, SHERLIKER P, ATOYEBI W, EMMENS K, BIRKS J, SCHNEEDE J, UELAND PM, NEXO E, SCOTT J, MOLLOY A, DONAGHY M, FROST C, EVANS JG. Clinical relevance of low serum vitamin B12 concentrations in older people: The Banbury B12 study. *Age and Ageing* 2006; 35: 416-422.
- HOEY L, MCNULTY H, ASKIN N, DUNNE A, WARD M, PENTIEVA K, STRAIN J, MOLLOY AM, FLYNN CA, SCOTT JM. Effect of a voluntary food fortification policy on folate, related B vitamin status, and homocysteine in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 1405-13.
- HOEY L, MCNULTY H, STRAIN JJ. Studies of biomarker responses to intervention with riboflavin: A systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition* 2009; 89: 1960S-1980S.

- HOEY L, STRAIN JJ, MCNULTY H. Studies of biomarker responses to intervention with vitamin B-12: A systematic review of randomized controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition* 2009; 89: 1981S-1996S.
- HOOPER L, ASHTON K, HARVEY LJ, DECSI T, FAIRWEATHER-TAIT SJ. Assessing potential biomarkers of micronutrient status by using a systematic review methodology: Methods. *American Journal of Clinical Nutrition* 2009; 89: 1953S-1959S.
- HORNIG D, WEISER H, WEBER F, WISS O. Effect of massive doses of ascorbic acid on its catabolism in guinea pigs. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 1973; 43: 28-33.
- HORWITT MK, HARVEY CC, HILLS OW, LIEBERT E. Correlation of urinary excretion of riboflavin with dietary intake and symptoms of ariboflavinosis. *Journal of Nutrition* 1950; 41: 247-64.
- HÖTZEL D, BITSCH R. Thiamine status of human subjects, estimated by biochemical methods. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 1976; 22 SUPPL: 41-45.
- HUANG YC, YAN YY, WONG Y, CHENG CH. Vitamin B6 intakes and status assessment of elderly men and women in Taiwan. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 2001; 71: 313-318.
- HUSTAD S, UELAND PM, VOLSET SE, ZHANG Y, BJORK-MONSEN AL, SCHNEEDE J. Riboflavin as a determinant of plasma total homocysteine: Effect modification by the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Clinical Chemistry* 2000; 46: 1065-1071.
- IBER FL, BLASS JP, BRIN M, LEEVY CM. Thiamin in the elderly - relation to alcoholism and to neurological degenerative disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 1982; 36: 1067-1082.
- ITOKAWA Y, KIMURA M, NISHINO K, MINO M, KITAGAWA M, MATSUOKA M, OTSUKA H. Blood levels and urinary excretion of thiamin and riboflavin during oral administration of multivitamin tablets to healthy adults. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 1992; Spec No: 438-441.

- JACOB RA, GRETZ DM, TAYLOR PC, JAMES SJ, POGRIBNY IP, MILLER BJ, HENNING SM, SWENDSEID ME. Moderate folate depletion increases plasma homocysteine and decreases lymphocyte DNA methylation in postmenopausal women. *Journal of Nutrition* 1998; 128: 1204-1212.
- JACOB RA, SKALA JH, OMAYE ST. Biochemical indices of human vitamin C status. *American Journal of Clinical Nutrition* 1987; 46: 818-26.
- JACOB RA. Assessment of human vitamin C status. *Journal of Nutrition* 1990; 120: 1480-1485.
- JENAB M, SLIMANI N, BICTASH M, FERRARI P, BINGHAM SA. Biomarkers in nutritional epidemiology: Applications, needs and new horizons. *Human Genetics* 2009; 125: 507-525.
- JOHNSTON CS. Biomarkers for establishing a tolerable upper intake level for vitamin C. *Nutrition Reviews* 1999; 57: 71-77.
- JOOSTEN E, VAN DEN BERG A, RIEZLER R, NAURATH HJ, LINDENBAUM J, STABLER SP, ALLEN RH. Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B-12 (cobalamin), folate, and vitamin B-6 occur commonly in elderly people. *American Journal of Clinical Nutrition* 1993; 58: 468-476.
- JOSHI UM, LAHIRI A, KORA S, DIKSHIT SS, VIRKAR K. Short-term effect of ovral and norgestrel on the vitamin B6 and B1 status of women. *Contraception* 1975; 12: 425-436.
- JYRKÄ J, MURSU J, ENLUND H, LÖNNROOS E. Polypharmacy and nutritional status in elderly people. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2012; 15: 1-6.
- KARLSEN A, BLOMHOFF R, GUNDERSEN TE. Stability of whole blood and plasma ascorbic acid. *European Journal of Clinical Nutrition* 2007; 61: 1233-1236.
- KÄRNER RW, VIERZIG A, ROTH B, MÄLLER C. Determination of thiamin diphosphate in whole blood samples by high-performance liquid chromatography-A method suitable for pediatric diagnostics. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 2009; 877: 1882-1886.

- KERR MA, LIVINGSTONE B, BATES CJ, BRADBURY I, SCOTT JM, WARD M, PENTIEVA K, MANSOOR MA, MCNULTY H. Folate, related B vitamins, and homocysteine in childhood and adolescence: potential implications for disease risk in later life. *Pediatrics* 2009; 123: 627-35.
- KING JC, VORSTER HH, TOME DG. Nutrient intake values (NIVs): A recommended terminology and framework for the derivation of values. *Food and Nutrition Bulletin* 2007; 28: S16-S26.
- KROMEYER-HAUSCHILD, WABITSCH M, KUNZE D, GELLER F, GEIß H, HESSE V, HIPPEL A, JAEGER U, JOHNSON D, KORTE W et al. Perzentile für den Body-mass-index für das Kinder- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschr Kinderh* 2001; 149: 807-818.
- KUNST AE, BOS V, MACKENBACH JP. Monitoring socio-economic inequalities in health in the European Union: guidelines and illustrations. A report for the health monitoring program of the European Commission. European Commission, Rotterdam, 2001.
- LEKLEM JE. Vitamin B-6: A status report. *Journal of Nutrition* 1990; 120: 1503-1507.
- LEMOS C, AZEVEDO I, MARTEL F. Effect of red wine on the intestinal absorption of thiamine and folate in the rat: Comparison with the effect of ethanol alone. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2005; 29: 664-671.
- LEVINE M, CONRY-CANTILENA C, WANG Y, WELCH RW, WASHKO PW, DHARIWAL KR, PARK JB, LAZAREV A, GRAUMLICH JF, KING J, CANTILENA LR. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: Evidence for a recommended dietary allowance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996; 93: 3704-3709.
- LEVINE M, RUMSEY SC, DARUWALA R, PARK JB, WANG Y. Criteria and recommendations for vitamin C intake. *Journal of the American Medical Association* 1999; 281: 1415-1423.
- LEWIS SJ, EBRAHIM S, SMITH GD. Meta-analysis of MTHFR 677C→T polymorphism and coronary heart disease: Does totality of evidence support causal role for

- homocysteine and preventive potential of folate? British Medical Journal 2005; 331: 1053-1056.
- LIAUGAUDAS G, JACQUES PF, SEIHUB J, ROSENBERG IH, BOSTOM AG. Renal insufficiency, vitamin B12 status, and population attributable risk for mild hyperhomocysteinemia among coronary artery disease patients in the era of folic acid-fortified cereal grain flour. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2001; 21: 849-851.
- LINDGREN A, KILANDER A, BAGGE E, NEXÄ E. Holotranscobalamin - A sensitive marker of cobalamin malabsorption. European Journal of Clinical Investigation 1999; 29: 321-329.
- LONN E, YUSUF S, ARNOLD MJ, SHERIDAN P, POGUE J, MICKS M, MCQUEEN MJ, PROBSTFIELD J, FODOR G, HELD C, GENEST JR J. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. New England Journal of Medicine 2006; 354: 1567-1577.
- LUI A, LUMENG L, ARONOFF GR, LI TK. Relationship between body store of vitamin B6 and plasma pyridoxal-P clearance: Metabolic balance studies in humans. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1985; 106: 491-497.
- LUSSANA F, ZIGHETTI ML, BUCCIARELLI P, CUGNO M, CATTANEO M. Blood levels of homocysteine, folate, vitamin B6 and B 12 in women using oral contraceptives compared to non-users. Thrombosis Research 2004; 112: 37-41.
- MAJCHRZAK D, SINGER I, MÄNNER M, RUST P, GENSER D, WAGNER KH, ELMADFA I. B-vitamin status and concentrations of homocysteine in Austrian omnivores, vegetarians and vegans. Annals of Nutrition and Metabolism 2006; 50: 485-491.
- MAKARCHIKOV AF, LAKAYE B, GULYAI IE, CZERNIECKI J, COUMANS B, WINS P, GRISAR T, BETTENDORFF L. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: From bacteria to mammals. Cellular and Molecular Life Sciences 2003; 60: 1477-1488.
- MATTHYS C, V'ANT VEER P, DE GROOT L, HOOPER L, CAVELAARS AEJM, COLLINGS R, DHONUKSHE-RUTTEN R, HARVEY LJ, CASGRAIN A, ROLLIN F, CONTOR L.

- EURRECA's approach for estimating micronutrient requirements. International Journal for Vitamin and Nutrition Research 2011; 81: 256-263.
- MCNEILL G, AVENELL A, CAMPBELL MK, COOK JA, HANNAFORD PC, KILONZO MM, MILNE AC, RAMSAY CR, SEYMOUR DG, STEPHEN AI, VALE LD. Effect of multivitamin and multimineral supplementation on cognitive function in men and women aged 65 years and over: A randomised controlled trial. Nutrition Journal 2007; 6.
- MCNULTY H, SCOTT JM. Intake and status of folate and related B-vitamins: Considerations and challenges in achieving optimal status. British Journal of Nutrition 2008; 99: S48-S54.
- MELETHIL S, MASON WD, CHIAN-JO C. Dose-dependent absorption and excretion of vitamin C in humans. International Journal of Pharmaceutics 1986; 31: 83-89.
- MILLER LT, LEKLEM JE, SHULTZ TD. The effect of dietary protein on the metabolism of vitamin B-6 in humans. Journal of Nutrition 1985; 115: 1663-1672.
- MILMAN N. Anemia - Still a major health problem in many parts of the world! Annals of Hematology 2011; 90: 369-377.
- MINER SES, EVROVSKI J, COLE DEC. Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: An update. Clinical Biochemistry 1997; 30: 189-201.
- MIYAZAKI A, SANO M, FUKUWATARI T, SHIBATA K. Effects of ethanol consumption on the B-group vitamin contents of liver, blood and urine in rats. British Journal of Nutrition 2012; 108: 1034-1041.
- MONGET AL, RICHARD MJ, COURNOT MP, ARNAUD J, GALAN P, PREZIOSI P, HERBETH B, FAVIER A, HERCBERG S. Effect of 6 month supplementation with different combinations of an association of antioxidant nutrients on biochemical parameters and markers of the antioxidant defence system in the elderly. European Journal of Clinical Nutrition 1996; 50: 443-449.
- MORETTI R, TORRE P, ANTONELLO RM, CATTARUZZA T, CAZZATO G, BAVA A. Vitamin B12 and folate depletion in cognition: A review. Neurology India 2004; 52: 310-318.

MOSER U. Nährstoffe - von der Entdeckung bis zur Empfehlung am Beispiel ausgewählter Mikronährstoffe. In: Referenzwerte für die tägliche Nährstoffzufuhr zwischen wissenschaftlicher Ableitung und praktischer Anwendung. Ed. Elmadfa I. Wissenschaftliche Schriftenreihe der Ernährungsgesellschaften Deutschland, Österreich, Schweiz. Berlin: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2012.

NACHUM-BIALA Y, TROEN AM. B-vitamins for neuroprotection: Narrowing the evidence gap. *BioFactors* 2012; 38: 145-150.

NARAYANAN MN, DAWSON DW, LEWIS MJ. Dietary deficiency of vitamin B12 is associated with low serum cobalamin levels in non-vegetarians. *European Journal of Haematology* 1991; 47: 115-118.

NEUMANN B. Vitamin-B12-Status-Bestimmung : Methylmalonsäure im Harn von österreichischen Erwachsenen und SeniorInnen. Diplomarbeit. Wien, Universität Wien, 2012.

NHMRC. Nutritional Health and Medical Research Council. Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand, 1991.  
<http://www.nrv.gov.au/nutrients/index.htm> (bezogen am 1.10.2012).

NICHOLS HK, BASU TK. Thiamin status of the elderly: Dietary intake and thiamin pyrophosphate response. *Journal of the American College of Nutrition* 1994; 13: 57-61.

NISHIKIMI M, YAGI K. Molecular basis for the deficiency in humans of gulonolactone oxidase, a key enzyme for ascorbic acid biosynthesis. *American Journal of Clinical Nutrition* 1991; 54: 1203S-1208S.

NNR. Nordic Nutrition Recommendations 2004. Integrating nutrition and physical activity. 4th Edition. Copenhagen: Norden, 2004.

NOVAKOVIC R, CAVELAARS AE, BEKKERING GE, ROMAN-VINAS B, NGO J, GURINOVIC M, GLIBETIC M, NIKOLIC M, GOLESORKHI M, MEDINA MW et al. Micronutrient intake and status in Central and Eastern Europe compared with other European countries, results from the EURRECA network. *Public Health Nutr* 2012; 21: 1-17.

- NRC. National Research Council. Committee on Diet and Health: implications for reducing chronic disease risk/Committee on Diet and Health, Food and Nutrition Board, Comission on Lifes Sciences, National Academies Press, National Research Concil, Washington, D.C., 1989:564.
- NRC. National Research Council. Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutritient Requirements. Washington, DC: The National Academies Press, 2006.
- O'KEEFFE CA, BAILEY LB, THOMAS EA, HOFLER SA, DAVIS BA, CERDA JJ, GREGORY III JF. Controlled dietary folate affects folate status in nonpregnant women. *Journal of Nutrition* 1995; 125: 2717-2725.
- OLSON JA, HODGES RE. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin C in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 1987; 45: 693-703.
- OMAYE ST, SCHAUS EE, KUTNINK MA, HAWKES WC. Measurement of vitamin C in blood components by high-performance liquid chromatography. Implication in assessing vitamin C status. *Ann N Y Acad Sci* 1987; 498: 389-401.
- PAKNAHAD Z, CHITSAZ A, ZADEH AH, SHEKLABADI E. Effects of common anti-epileptic drugs on the serum levels of homocysteine and folic acid. *International Journal of Preventive Medicine* 2012; 3.
- PAPANDREOU D, MAVROMICHALIS I, MAKEDOU A, ROUSSO I, ARVANITIDOU M. Total serum homocysteine, folate and vitamin B12 in a Greek school age population. *Clinical Nutrition* 2006; 25: 797-802.
- PETTEYS BJ, FRANK EL. Rapid determination of vitamin B(2) (riboflavin) in plasma by HPLC. *Clinica Chimica Acta* 2011; 412: 38-43.
- PFEIFFER CM, JOHNSON CL, JAIN RB, YETLEY EA, PICCIANO MF, RADER JI, FISHER KD, MULINARE J, OSTERLOH JD. Trends in blood folate and vitamin B-12 concentrations in the United States, 1988-2004. *American Journal of Clinical Nutrition* 2007; 86: 718-727.
- POTISCHMAN N, FREUDENHEIM JL. Biomarkers of nutritional exposure and nutritional status: An overview. *Journal of Nutrition* 2003; 133.

- POWERS HJ. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *American Journal of Clinical Nutrition* 2003; 77: 1352-1360.
- PRESTON AM. Cigarette smoking-nutritional implications. *Progress in Food and Nutrition Science* 1991; 15: 183-217.
- RAUH M, VERWIED S, KNERR I, DÖRR HG, SÖNNICHSEN A, KOLETZKO B. Homocysteine concentrations in a German cohort of 500 individuals: Reference ranges and determinants of plasma levels in healthy children and their parents. *Amino Acids* 2001; 20: 409-418.
- ROSS LJ, WILSON M, BANKS M, REZANNAH F, DAGLISH M. Prevalence of malnutrition and nutritional risk factors in patients undergoing alcohol and drug treatment. *Nutrition* 2012; 28: 738-743.
- SAID HM. Intestinal absorption of water-soluble vitamins in health and disease. *Biochemical Journal* 2011; 437: 357-372.
- SATO Y, HONDA Y, IWAMOTO J, KANOKO T, SATOH K. Effect of folate and mecabalamin on hip fractures in patients with stroke: A randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association* 2005; 293: 1082-1088.
- SAUBERLICH HE, CANHAM JE, BAKER EM, RAICA JR N, HERMAN YF. Biochemical assessment of the nutritional status of vitamin B 6 in the human. *American Journal of Clinical Nutrition* 1972; 25: 629-642.
- SAUBERLICH HE, HERMAN YF, STEVENS CO, HERMAN RH. Thiamin requirement of the adult human. *American Journal of Clinical Nutrition* 1979; 32: 2237-2248.
- SAUBERLICH HE, KRETSCH MJ, SKALA JH, JOHNSON HL, TAYLOR PC. Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *American Journal of Clinical Nutrition* 1987; 46: 1016-1028.
- SAUBERLICH HE. Human Requirements for Vitamin B6. *Vitamins & Hormones* 1964; 22: 807-23.
- SAUBERLICH HE. Laboratory tests for the assessment of nutritional status. Second Edition. Florida: CRC Press, 1999.
- SCF. Scientific Committee for Food. Reports of the Scientific Committee for Food. Nutrient and energy intakes for the European Community. Luxembourg, 1993.

- SCHILLING RF. Intrinsic factor studies II. The effect of gastric juice on the urinary excretion of radioactivity after the oral administration of radioactive vitamin B12. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1953; 42: 860-866.
- SCHOENEN J, LENAERTS M, BASTINGS E. High-dose riboflavin as a prophylactic treatment of migraine: Results of an open pilot study. *Cephalgia* 1994; 14: 328-329.
- SCHOFIELD WN. Predicting basal metabolic rate, new standards and review of previous work. *Human nutrition. Clinical nutrition* 1985; 39 Suppl 1: 5-41.
- SCOUCI SW, FACHMANN W, KRAUT H. Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwerttabellen. 7. Auflage. Stuttgart: medpharm Scientific Publisher, 2008.
- SELHUB J, BAGLEY LC, MILLER J, ROSENBERG IH. B vitamins, homocysteine, and neurocognitive function in the elderly. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000; 71: 614S-620S.
- SELHUB J, JACQUES PF, DALLAL G, CHOUMENKOVITCH S, ROGERS G. The use of blood concentrations of vitamins and their respective functional indicators to define folate and vitamin B12 status. *Food and Nutrition Bulletin* 2008; 29: S67-73.
- SELHUB J, JACQUES PF, ROSENBERG IH, ROGERS G, BOWMAN BA, GUNTER EW, WRIGHT JD, JOHNSON CL. Serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey (1991-1994): Population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Annals of Internal Medicine* 1999; 131: 331-339.
- SELHUB J, JACQUES PF, WILSON PWF, RUSH D, ROSENBERG IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *Journal of the American Medical Association* 1993; 270: 2693-2698.
- SHOJANIA AM, WYLIE B. The effect of oral contraceptives on vitamin B12 metabolism. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1979; 135: 129-134.
- SOARES MJ, SATYANARAYANA K, BAMJI MS, JACOB CM, RAMANA YV, RAO SS. The effect of exercise on the riboflavin status of adult men. *British Journal of Nutrition* 1993; 69: 541-551.

SPINNEKER A, SOLA R, LEMMEN V, CASTILLO MJ, PIETRZIK K, GONZÁLEZ-GROSS M.

Vitamin B 6 status, deficiency and its consequences - An overview. Nutricion Hospitalaria 2007; 22: 7-24.

STANGER O, HERRMANN W, PIETRZIK K, FOWLER B, GEISEL J, DIERKES J, WEGER M.

DACH-LIGA homocysteine (German, Austrian and Swiss homocysteine society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: Guidelines and recommendations. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 2003; 41: 1392-1403.

STATISTIK AUSTRIA. Bevölkerung zu Quartalsbeginn ab 2002, 2011.

<http://sdb.statistik.at/superwebguest/login.do?guest=guest&db=debevstand>  
(bezogen am 16.5.2012).

STEEGERS-THEUNISSEN RPM, BOERS GHJ, STEEGERS EAP, TRIJBELS FJM, THOMAS CMG, ESKES TKAB. Effects of sub-50 oral contraceptives on homocysteine metabolism: A preliminary study. Contraception 1992; 45: 129-139.

STEVENSON NR. Active transport of L ascorbic acid in the human ileum. Gastroenterology 1974; 67: 952-956.

STEWART JS, ROBERTS PD, HOFFBRAND AV. Response of dietary vitamin-B12 deficiency to physiological oral doses of cyanocobalamin. Lancet 1970; 2: 542-545.

SÜTTERLIN MW, BUSSEN SS, RIEGER L, DIETL J, STECK T. Serum folate and Vitamin B12 levels in women using modern oral contraceptives (OC) containing 20 µg ethinyl estradiol. European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology 2003; 107: 57-61.

TALWAR D, DAVIDSON H, COONEY J, JO'REILLY DS. Vitamin B status assessed by direct measurement of thiamin pyrophosphate in erythrocytes or whole blood by HPLC Comparison with erythrocyte transketolase activation assay. Clinical Chemistry 2000; 46: 704-710.

- TASEVSKA N, RUNSWICK SA, MCTAGGART A, BINGHAM SA. Twenty-four-hour urinary thiamine as a biomarker for the assessment of thiamine intake. European Journal of Clinical Nutrition 2008; 62: 1139-1147.
- THANE CW, BATES CJ, PRENTICE A. Oral contraceptives and nutritional status in adolescent British girls. Nutrition Research 2002; 22: 449-462.
- TSUJI T, FUKUWATARI T, SASAKI S, SHIBATA K. Twenty-four-hour urinary water-soluble vitamin levels correlate with their intakes in free-living Japanese university students. European Journal of Clinical Nutrition 2010; 64: 800-807.
- TURRELL G. Income non-reporting: implications for health inequalities research. Journal of Epidemiology & Community Health 2000; 54: 207-214.
- UBBINK JB, VERMAAK WJH, BISSBORT S. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum. Journal of Chromatography - Biomedical Applications 1991; 565: 441-446.
- UNESCO. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. International Standard Classification of Education. ISCED 2011, 2012. <http://www.uis.unesco.org/Education/Documents/isced-2011-en.pdf> (bezogen am 23.01.2013).
- VAN DAM F, VAN GOOL WA. Hyperhomocysteinemia and Alzheimer's disease: A systematic review. Archives of Gerontology and Geriatrics 2009; 48: 425-430.
- VAN DEN BERG H, VAN DER GAAG M, HENDRIKS H. Influence of lifestyle on vitamin bioavailability. International Journal for Vitamin and Nutrition Research 2002; 72: 53-59.
- VERHOEF P, STAMPFER MJ, BURING JE, GAZIANO JM, ALLEN RH, STABLER SP, REYNOLDS RD, KOK FJ, HENNEKENS CH, WILLETT WC. Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: Relation with vitamins B6, B12, and folate. American Journal of Epidemiology 1996; 143: 845-859.
- WALD DS, LAW M, MORRIS JK. Homocysteine and cardiovascular disease: Evidence on causality from a meta-analysis. British Medical Journal 2002; 325: 1202-1206.

- WALD DS, MORRIS JK, LAW M, WALD NJ. Folic acid, homocysteine, and cardiovascular disease: Judging causality in the face of inconclusive trial evidence. *British Medical Journal* 2006; 333: 1114-1117.
- WALDMANN A, DÄRR B, KOSCHIZKE JW, LEITZMANN C, HAHN A. Dietary intake of vitamin B6 and concentration of vitamin B6 in blood samples of German vegans. *Public Health Nutrition* 2006; 9: 779-784.
- WANG X, QIN X, DEMIRTAS H, LI J, MAO G, HUO Y, SUN N, LIU L, XU X. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet* 2007; 369: 1876-1882.
- WEBB JL. Nutritional effects of oral contraceptive use. A review. *Journal of Reproductive Medicine for the Obstetrician and Gynecologist* 1980; 25: 150-156.
- WEBER C, ERL W, WEBER K, WEBER PC. Increased adhesiveness of isolated monocytes to endothelium is prevented by vitamin C intake in smokers. *Circulation* 1996; 93: 1488-1492.
- WHO. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation 2000.
- WHO. World Health Organization. WHO report on the global tobacco epidemic, 2001: warning about the danger of tobacco, 2011. [http://www.who.int/tobacco/global\\_report/2011/en/index.html](http://www.who.int/tobacco/global_report/2011/en/index.html) (bezogen am 30.04.2013).
- WHO. World Health Organization. BMI classification, 2004. [http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html) (bezogen am 23.02.2013).
- WHO/FAO. World Health Organization/ Food and Agriculture Organization of the United Nations. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand, 21–30 September 1998. Sun Fung. Hong Kong, 2004.

- WOLTERS M, HERMANN S, HAHN A. Effect of multivitamin supplementation on the homocysteine and methylmalonic acid blood concentrations in women over the age of 60 years. European Journal of Nutrition 2005; 44: 183-192.
- WOOD B, GIJSBERS A, GOODE A. A study of partial thiamin restriction in human volunteers. American Journal of Clinical Nutrition 1980; 33: 848-861.
- WOODSIDE JV, YOUNG IS, GILCHRIST SECM, VIOQUE J, CHAKRAVARTHY U, DE JONG PTVM, RAHU M, SELAND J, SOUBRANE G, TOMAZZOLI L et al. Factors associated with serum/plasma concentrations of vitamins A, C, E and carotenoids in older people throughout Europe: the EUREYE study. European Journal of Nutrition 2012; 1-9.
- WRIGHT JD, BIALOSTOSKY K, GUNTER EW, CARROLL MD, NAJJAR MF, BOWMAN BA, JOHNSON CL. Blood folate and vitamin B12: United States, 1988-94. Vital and health statistics. Series 11, Data from the national health survey 1998: 1-78.

## **9 ANHANG**

### **9.1 CURRICULUM VITAE**

#### **PERSÖNLICHE DATEN**

---

Name Ninja-Maria Weidl

#### **AUSBILDUNG**

---

04/2010 —	Doktoratsstudium im Rahmen des vom Gesundheitsministerium finanzierten Projektes „Österreichischer Ernährungsbericht 2012“ an der Universität Wien am Institut für Ernährungswissenschaften
10/2005 — 03/2010	Diplomstudium an der Universität Wien am Institut für Ernährungswissenschaften mit Schwerpunkt Ernährungsökonomie; Titel der Diplomarbeit: Development of a semi-quantitative food frequency questionnaire to assess dietary energy intake
09/2003 — 06/2005	Christian-Doppler-Realgymnasium, Salzburg, Österreich Matura am 21.06.05 mit ausgezeichnetem Erfolg
09/1996 — 06/2000	Bundesrealgymnasium Körösi, Graz, Österreich

#### **AUSLANDSAUFENTHALTE**

---

06/2008 — 09/2008	Praktikum in der Karlsbader Oblaten- und Waffelfabrik GmbH Bayern in Dillingen, Deutschland
01/2002 — 06/2003	Highschool Santa Fe Preparatory School in New Mexico, USA
09/2000 — 01/2002	Boarding School Glenalmond in Perth, Schottland

**BERUFSERFAHRUNG und PRAKTIKA**

---

03/2012 —	Lehrbeauftragte der Universität Wien am Institut für Ernährungswissenschaften in Wien
04/2010 — 10/2012	Mitarbeiterin bei dem Projekt „Österreichischer Ernährungsbericht 2012“ am Institut für Ernährungswissenschaften in Wien
11/2009 — 12/2009	Praktikum in der Lebensmittelanalytik bei Eurofins (Chemieabteilung) in Wien
10/2009	Infoline Assistentin bei der Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) zum Thema Schweinegrippe in Wien
02/2009	Praktikum bei der Arbeitsgemeinschaft für klinische Ernährung (AKE) im Rahmen des Projekts „nutrition day in Europe“ in Wien
06/2008 – 09/2008	Praktikum in der Karlsbader Oblaten- und Waffelfabrik GmbH Bayern in Dillingen, Deutschland
02/2008	Praktikum im Rahmen des Projekts „nutrition day in Europe“ bei der AKE in Wien

**ZUSATZQUALIFIKATIONEN**

---

EDV-Kenntnisse	MS-Office, SPSS Statistics, Adobe Photoshop, Nut.s, Endnote, Literaturdatenbanken, Labsolutions
Sprachkenntnisse	Deutsch Muttersprache, verhandlungssicher/fließend, Basiskenntnisse Englisch Italienisch
Laborerfahrung	HPLC, GC, RIA, Accelerated Solvent Extraction, Proteinbestimmug nach Kjeldahl, Photometrie, Enzymaktivierungstests, Kalorimetrie
Führerschein:	Führerschein B