

## Nachweis bioaktiver Vitamin B-Spiegel mit einem mikrobiologischen Bioassay (ID-Vit®)

Die Vitamine der B-Gruppe gehören zu den wasserlöslichen Vitaminen. Der Vitaminbedarf des Menschen steht aufgrund der zentralen Stellung der B-Vitamine im Energiestoffwechsel in einer direkten Relation zum Energieumsatz. Vor allem bei chronischen Entzündungserkrankungen ist der Bedarf deshalb erhöht. Zudem können eine verminderte Resorptionsfähigkeit oder schlechte Speichermöglichkeiten der wasserlöslichen Vitamine Mangelerscheinungen verursachen.

### Konventionelle Tests erfassen nur die Vitaminmenge

Die am häufigsten genutzte Methode für den Nachweis von B-Vitaminen ist die Bestimmung mittels HPLC. Dabei wird die Substanzmenge der B-Vitamine bestimmt. Dieses kann im Serum, EDTA-Plasma oder auch intrazellulär erfolgen (im Blutkuchen nach Abtrennung flüssiger Blutbestandteile). Dieses Verfahren differenziert jedoch nicht zwischen aktiven und inaktiven Vitaminmetaboliten. Zum Beispiel stellt Vitamin B6 einen Mix aus 6 interkonvertiblen Substanzen dar, namentlich Pyridoxal (PL), 1-Pyridoxin (PN), Pyridoxamin (PM), Pyridoxal-5-phosphat (PLP), 1-Pyridoxin-5-Phosphat (PNP) und Pyridoxamin-5-Phosphat (PMP) sowie das Endprodukt des Vitamin-B-Metabolismus 4-Pyridoxalsäure. Allgemein anerkannt ist, dass PLP der wirksamste Bestandteil ist, wobei für den Vitamineffekt auch die Verhältnisse der einzelnen Metabolite entscheidend sind.

messenden Vitamins. Nach Zugabe des Patientenblutes wachsen die Mikroorganismen solange, bis der bioaktive Anteil des darin enthaltenen jeweiligen Vitamins aufgebraucht ist. Das Wachstum der Mikroorganismen wird nach 72h als Trübung photometrisch gemessen und mit einer Standard-Konzentrationsreihe verglichen. Das Wachstum ist dabei direkt proportional zur Menge an bioaktivem Vitamin in der Patientenblutprobe.

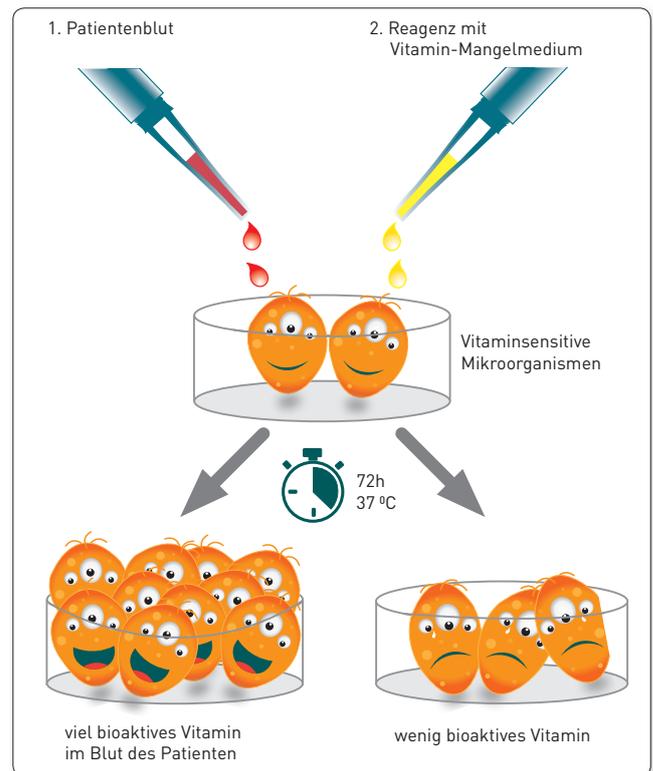
IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht		
Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich	
<b>Bioaktive Vitaminanalytik</b>				
Der Test erfasst den Gehalt an bioaktivem Vitamin im Patientenblut durch Messung des Wachstums selektiv Vitamin-abhängiger Indikator-mikroorganismen.				
Vitamin B1 bioaktiv i. E.	43,5	µg/l	> 39,8	
Vitamin B2 bioaktiv i. S.	102	µg/l	> 85,4	
Vitamin B6 bioaktiv i. S.	<b>4,33</b>	µg/l	> 10,1	
Vitamin B12 bioaktiv i. S.	372	µg/l	> 358	
Folsäure bioaktiv i. S.	10,5	µg/l	> 8,8	

Der Vitamin B6-Spiegel ist funktionell zu niedrig. Bei den anderen Vitaminen liegt aus funktioneller Sicht eine ausreichende Versorgung vor.

**Abb. 1** Der Befund zeigt, dass Vitamin B6 funktionell ein deutliches Defizit aufweist.

### Eine neuartige biologische Bestimmungsmethode ID-Vit® liefert den Spiegel an wirksamen B-Vitaminen

Bei diesem funktionellen Test werden die Blutproben von Patienten enzymatisch vorbehandelt und verdünnt in eine Mikrotiterplatte gegeben, die mit vitaminsensitiven Lactobacillus- bzw. Saccharomyces-Stämmen beschichtet sind. Das für jedes Vitamin individuell zusammengesetzte Kulturmedium enthält alle für das Bakterien-/Hefewachstum notwendigen Bestandteile mit Ausnahme des jeweils zu

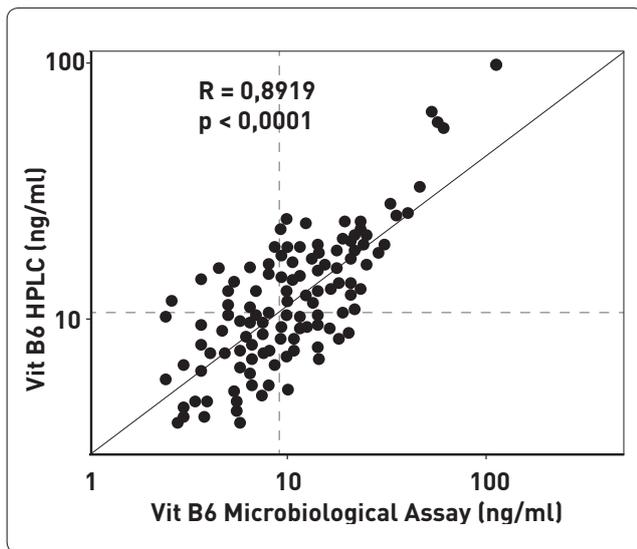


**Abb. 2** Der Test erfasst den Gehalt an bioaktivem Vitamin an Hand des Wachstums selektiv vitaminabhängiger Indikatormikroorganismen.

### Wo liegen die ID-Vit®-Werte im Vergleich zur konventionellen Analyse?

Die Ergebnisse zwischen dem ID-Vit®-Assay und der HPLC-Methode zeigen für die 5 etablierten Vitamine eine gute Korrelation. Nur beim Vitamin B2 war keine Korrelation erkennbar, was möglicherweise daran liegt, dass hier ausschließlich die Metabolite Flavinmononucleotid und Flavinadeninucleotid wirksam sind. Allerdings zeigten sich bei allen Vitaminen, insbesondere im Grenzbereich der Normwerte, Abweichungen, was durch den unterschiedlichen Gehalt an aktiven und inaktiven Bestandteilen erklärbar ist. In 5 bis 15 % der Fälle zeigten sich funktionelle Mangelzustände, die bei der herkömmlichen Substanzanalyse nicht erkennbar waren. Dieses betraf gleichermaßen die Blutspiegel wie auch die intrazellulär erhobenen Werte.

**Haben Sie Fragen? Unser Service Team beantwortet sie gerne unter +49 (0)30 770 01-220.**



**Abb. 3** Die Abbildung zeigt eine Korrelation zwischen dem Plasma-Spiegel an Vitamin B6 (HPLC) und den bioaktiven „Spiegeln“ (IDVit®). Es wird aber deutlich, dass die Patienten im linken oberen Quadranten zwar normale Vitamin B6-Spiegel, aber eine zu geringe VitaminB-Bioaktivität haben. Quelle: Loitsch SM, Clin Lab 2014; 60: 1035-41

#### Vorteile der Bestimmung der bioaktiven B-Vitamine

Der Test erfasst die tatsächlich in vivo wirksamen Vitamin B-Metabolite. Insofern ist die Bioaktivität im Vergleich zur Spiegelbestimmung dann aussagekräftiger, wenn die Indikation für eine Substitutionstherapie gestellt werden oder wenn der Therapieerfolg kontrolliert werden soll. Zur Erfassung des Versorgungsstatus empfiehlt es sich, den ID-Vit®-Test einzusetzen, v.a. wenn die Plasma-, Serum- oder intrazellulären Spiegel im Graubereich liegen.

Derzeit ist der ID-Vit®-Test für die Vitamine B1, -B2, -B6, -B12 sowie Folsäure (Vitamin B9) etabliert.

#### Vitamin B1 (Thiamin)

Thiamin wird aus dem Darm resorbiert. Durch Pyrophosphorylasen wird es in das biologisch aktive Thiaminpyrophosphat (TPP) überführt. Thiamin ist in der Leber und den Erythrozyten Coenzym im Pentosephosphat-Stoffwechsel. Im Nervensystem ist es essentiell für den Energiestoffwechsel und die Biosynthese von Lipiden und des Acetylcholins. Klinische Zeichen eines Vitamin B1-Mangels sind Sensibilitätsstörungen, Fußbrennen, Muskelschwäche, Muskelkrämpfe, zentralbedingte Koordinationsstörungen, psychische Veränderungen wie Müdigkeit, Konzentrationsmangel, verminderte Merkfähigkeit, Reizbarkeit, Depression sowie kardiovaskuläre Störungen mit Tachykardien und EKG-Veränderungen.

#### Vitamin B2 (Riboflavin)

Vitamin B2 ist in seinen biologisch aktiven Wirkformen Flavinmononucleotid (FMN) und Flavinadenindinucleotid (FAD) Cofaktor zahlreicher Redox-Enzyme. Riboflavinderivate aus der Nahrung müssen vor der Resorption im Dünndarm unter dem Einfluss der Magensäure aus ihrer Proteinbindung freigesetzt werden. Zu den klinischen Symptomen eines Vitamin B2-Mangels gehören entzündliche Haut- und Schleimhautveränderungen, verzögerte Wundheilung, Thrombosen und arteriosklerotische Veränderungen sowie eine Homocystein-Erhöhung.

#### Vitamin B6 (Pyridoxal, Pyridoxin, Pyridoxamin)

Vitamin B6 ist als Pyridoxalphosphat bei einer Vielzahl von enzymatischen Stoffwechselreaktionen beteiligt, v.a. aber als Cofaktor bei der Transaminierung, Decarboxylierung, Dehydratisierung und Spaltungsreaktionen im Aminosäurestoffwechsel. Besondere Bedeutung hat Vitamin B6 bei der Bildung von Serotonin aus Tryptophan und beim Histaminabbau durch die Diaminoxidase (DAO).

Klinische Symptome bei Mangelzuständen sind v.a. neurologische Störungen (Ataxie, Paresen), Schlaflosigkeit, Reizbarkeit, Sensibilitätsstörungen, Entzündungen von Haut- und Schleimhaut, Neuritiden mit brennenden Schmerzen, Blutbildveränderungen (Zytopenien, mikrozytäre Anämie), Histaminintoleranz, Einschränkung der enteralen Spurenelementresorption und eine Homocystein-Erhöhung.

#### Vitamin B12 (Cobalamin)

Zur Gruppe der B12 Vitamine gehört als wichtigstes Vitamin das Coenzym B12, das als Kofaktor verschiedener Enzyme fungiert. Als Zentralatom enthalten Cobalamine das Spurenelement Cobalt. Die biologisch inaktive Form ist das Cyanocobalamin (= Vitamin B12), welches in die biologisch aktive Form, das Adenosylcobalamin (= Coenzym B12), umgewandelt wird. Neben dem Adenosylcobalamin ist Methylcobalamin (Methyl-B12, MeCbl) eine weitere biologisch wirksame Form.

Frühe klinische Symptome eines Vitamin B12-Mangels zeigen sich durch Kribbeln und Kältegefühl in Händen und Füßen, Erschöpfung und Konzentrationsstörungen. Mangelerscheinungen können Erkrankungen wie die perniziöse Anämie sowie auch Schädigungen des zentralen Nervensystems hervorrufen (funikuläre Myelose). Ein möglicher Zusammenhang besteht auch zwischen einem B12-Mangel und Demenz.

#### Folsäure

Folsäure wird als Vorstufe für das aktive Coenzym Tetrahydrofolsäure (THF) aus der Nahrung aufgenommen. Wie auch Vitamin B6 und B12 spielt THF eine zentrale Rolle im C1-Stoffwechsel. Aufgrund seiner Funktion bei der DNA-Synthese spielt Folsäure eine wichtige Rolle bei der Neubildung von Zellen, auch der Immunzellen und der Darmepithelien. Ein Folsäuremangel betrifft in erster Linie sich schnell teilende Zellen, wie z. B. hämatopoetische Zellen, was, wie auch beim B12-Mangel, zur perniziösen Anämie führen kann.

#### Material

**Vitamin B1:** 1 ml EDTA-Blut (unzentrifugiert)

**Vitamine B2, -B6, -B12 und Folsäure:** 1 Vollblut-Röhrchen (unzentrifugiertes Serum)

Das Probenmaterial muss innerhalb von 24h im Labor eintreffen. Bitte nutzen Sie unseren bundesweiten kostenfreien Kurierdienst Tel.: +49 (0)30 770 01 450.

#### Abrechnung

Die B-Vitamine mit dem ID-Vit®-Test werden kostenidentisch zur Blutspiegelbestimmung abgerechnet. Private Kassen übernehmen bei gegebener Indikation die Kosten. Die Kosten für Selbstzahler betragen je Vitamin B1, B2, B6 33,22 € bzw. B12 oder Folsäure 14,57 € (1,0fach GOÄ). Eine Anforderung auf EBM-Überweisungsschein ist für diese Untersuchung nicht möglich.

#### Literatur

- Loitsch SM, Reuter KC, Oremek GM, Wetzstein R, Stangl K, Armbruster FP, Dschietzig TB, Stein J. Comparison of a new microbiological assay with a standard high-performance liquid chromatographic method for determination of vitamin B6 in serum. Clin Lab. 2014; 60:1035-41.