

Titel

25-Hydroxyvitamin D Serumkonzentrationen gesunder Erwachsener bei KarMeN, einer Metabolomics-Studie mit Focus Ernährung

Autoren

R. Krüger, A. Roth, S. Bandt, A. Bub, B. Watzl

Einleitung

Bei der KarMeN-Studie (Karlsruhe Metabolomics and Nutrition) wurde der Einfluss von Ernährung und körperlicher Aktivität auf das Metabolom untersucht. Die 312 gesunden Probanden wurden ausführlich charakterisiert (Anamnese, Körperzusammensetzung, klinische Parameter, Ernährung, körperliche Aktivität, Fitness). Die Metabolom-Analytik in Plasma und Urin erfolgte über NMR, GCxGC sowie targeted LC-MS. Lebensmittelverzehr und Nährstoffaufnahme wurden mit zwei 24-h-Recalls im Abstand mehrerer Wochen geschätzt. Für Vitamin D ist damit aber keine Beurteilung der Versorgung möglich, da der größte Teil in der Haut durch UV-Licht gebildet wird und nur ein kleiner Teil durch die Nahrung aufgenommen wird. Aufgrund der zentralen Bedeutung im Stoffwechsel (Knochen, Immunabwehr) ist es wesentlich den Versorgungsstatus von Vitamin D im Rahmen von KarMeN durch eine direkte, quantitative Bestimmung im Blut zu erfassen.

Experimenteller Teil

Vitamin D₃ wird im Körper gebildet oder stammt aus tierischen Quellen, *Vitamin D₂* stammt aus Pflanzen. Anerkannter Parameter für den Versorgungsstatus ist die Speicherform *25-Hydroxyvitamin D (25OH-D₂/D₃)* im Serum. Die Bedeutung isomerer Formen ist unklar, es gibt aber Hinweise, dass die *3-Epimere* teilweise physiologisch wirksam sind. Im Rahmen der KarMeN-Studie wurde daher eine Methode zur Bestimmung von *25OH-D₂/D₃* sowie *epi-25OH-D₃* im Serum mit LC-MS etabliert.

Methode: UPLC-MS/MS (Acquity H-Class + TQD, Waters), PFP-Säule 150x2.1mm (Acquity HSS PFP, Waters), Methanol-Gradient, ESI positiv, MRM 2 Übergänge je Analyt

Probenvorbereitung: Proteinfällung (Methanol/ZnSO₄) plus Flüssig-Extraktion (Hexan)

Kalibration und Kontrollen: matrixadaptiert, gespiktes Humanplasma (Chromsystems), deuterierter interner Standard (*d₆-25OH-D₃*)

Ergebnisse und Diskussion

Das hormonell wirkende Vitamin D ist ein essentieller Mikronährstoff, der in den letzten Jahren zunehmend in den Focus gerückt ist und bei dem eine Unterversorgung in der Bevölkerung diskutiert wird. Ein Mangel beeinflusst den Calcium-Stoffwechsel und ist mit gesundheitlichen Risiken assoziiert, z.B. Störungen der Knochenmineralisierung (Osteomalazie) und erhöhte Infektanfälligkeit. Für einen Zusammenhang mit systemischen Erkrankungen (Krebs, Diabetes Typ II, Herz-Kreislauf) gibt es Hinweise, aber bisher keine ausreichende Evidenz.

Mit der etablierten Methode können die einzelnen Epimere von *25OH-D* ab 5 nmol/L sicher erfasst werden, der lineare Bereich geht bis 72 nmol/L, für *25OH-D₃* bis 166 nmol/L. Die Präzision der Kontrollen liegt bei 5-7% (Serie, Tag-zu-Tag), der Bias bei <3% (Richtigkeit) und die analytische Wiederfindung inklusive Probenvorbereitung bei 72-81%.

Die Bestimmung von *25-OH-D* ermöglichte die direkte Überprüfung des Versorgungstatus der Probanden und erlaubt im Rahmen der Studie wertvolle Rückschlüsse auf mögliche Zusammenhänge

zwischen Vitamin-D-Serumkonzentrationen, metabolischem Status, Ernährung sowie körperlicher Aktivität. Bei $25OH-D_3$ liegt der Median mit 51.1 nmol/L knapp über dem DGE-Referenzwert von 50 nmol/L, 47% der Werte liegen unterhalb. Es zeigte sich keine signifikante Korrelation mit Alter oder Geschlecht. Für $25OH-D_2$ wurden nur in 21 Proben (7%) Werte oberhalb der Bestimmungsgrenze gefunden, für $epi-25OH-D_3$ in 47 Proben (15%). In diesen 47 Proben korreliert $epi-25OH-D_3$ mit $25OH-D_3$ ($p < 0.0001$). Der erwartete saisonale Einfluss (Sonneneinstrahlung) zeigt bei $25OH-D_3$ einen deutlichen Sinus-Verlauf und kann durch eine rechnerische Kompensation eliminiert werden. Dies ist wichtig um mögliche Einflüsse von Vitamin D auf andere Stoffwechsel-Parameter erkennen zu können, die ansonsten von der jahreszeitlichen Schwankung verdeckt werden könnten. Mittelwert und Median sind nach der jahreszeitlichen Kompensation nahezu unverändert, die Streuung der Daten wird etwas geringer. Im Rahmen weiterer Auswertungen ist geplant mögliche Zusammenhänge mit anderen KarMeN-Parametern aus den Bereichen Ernährung, körperliche Aktivität, Gesundheit und Metaboliten-Profilen zu untersuchen, jeweils mit und ohne Korrektur des jahreszeitlichen Verlaufs.

Referenzen

1. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), 2012 (Neuer Umschau Buchverlag, 1. Auflage, 4. korrigierter Nachdruck). Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr Vitamin D
2. Bailey et al., Clin. Biochem. 2013; 46:190. Analytical measurement and clinical relevance of vitamin D_3 C3-epimer
3. Phinney et al., Anal. Chem. 2012; 84:956. Development and certification of a standard reference material for vitamin D metabolites in human serum.
4. Sachs et al., Am. J. Clin. Nutr. 2013; 97:1243. Estimating mean annual 25-hydroxyvitamin D concentrations from single measurements: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis.

Neue Aspekte

Erfassung der Vitamin-D-Versorgung eines gesunden Studienkollektivs in Abhängigkeit von Ernährungsstatus, körperlicher Aktivität und Metaboliten-Profil.

Stichwörter

Vitamin D, LC-MS/MS, Metabolomics, Ernährung