
Aus der
Klinik der Allgemeinen Pädiatrie
Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. Ertan Mayatepek

**Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Betain in der
Behandlung der schweren Hyperhomocysteinämie**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

von Nina Denise Brauer
geb. Balkenhol

2007

**Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

gez: Univ.-Prof. Dr. Nürnberg

Dekan

Referent: PD Dr. med. Bernd Schwahn

Korreferent: Prof. Dr. med. Thomas Hohlfeld

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	4
1.1	Homocystein	4
1.2	Methylgruppen-Stoffwechsel.....	5
1.3	Strukturformeln.....	6
1.4	Ursachen einer schweren Hyperhomocysteinämie	7
1.5	Therapie der Homocystinurien	10
1.6	Betain	11
1.7	Zielsetzung.....	13
2	PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN	14
2.1	Patienten	14
2.2	Analytische Verfahren	19
2.3	Statistik.....	22
2.4	Pharmakokinetisches-pharmakodynamisches Modell.....	22
3	ERGEBNISSE	24
3.1	Plasma-Metabolitenprofil zum Zeitpunkt t_0	24
3.2	Pharmakokinetische Analyse der Roh- und Modelldaten	33
3.3	Pharmakodynamische Analyse der Roh- und Modelldaten.....	47
3.4	Einfluss intraindividuelle Variation der Betain-Dosis bzw. Therapiedauer auf Pharmakokinetik und Pharmakodynamik.....	63
3.5	Renale Exkretion von Betain und DMG	65
4	DISKUSSION.....	68
4.1	Plasma-Metabolitenprofile zum Zeitpunkt t_0	68
4.2	Einfluss der Therapiephase auf die Plasma-Metabolitenprofil.....	72
4.3	Analyse der pharmakokinetischen Daten	74
4.4	Analyse der pharmakodynamischen Daten	80
4.5	Geschlechtsspezifische pharmakokinetische und pharmakodynamische Unterschiede	74
4.6	Zusammenhang zwischen Therapiephase bzw. Tagesdosis und Pharmakokinetik und Pharmakodynamik.....	88
4.7	Renale Exkretion von Betain und DMG	90
4.8	Vergleich der vorliegenden Daten mit bereits publizierten Daten.....	91
4.9	Schwächen des Studiendesign und der Auswertung	95

5	SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK.....	96
6	LITERATUR.....	98
7	ANHANG	105
7.1	Tabellenanhang	105
7.2	Darstellung der Modell- und Rohdaten einzelner Patienten	108
7.3	Danksagung	115
7.4	Eidesstattliche Erklärung.....	115
7.5	Lebenslauf.....	116
7.6	Vorträge, Poster, Abstracts & Publikationen zu Betain.....	117

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Betain um den therapeutischen Einsatz von Betain in der Behandlung der Homocystinurien zu optimieren.

Es wurden 13 Patienten mit schwerer Hyperhomocysteinämie aufgrund eines CBS- oder MTHFR-Mangels unter oraler Betain-Supplementation in variierender Dosis (50 – 100 mg / kg KG) und Dosisfrequenz (1- 6 ED / Tag) untersucht. Es wurden serielle Plasma-Proben zu den Zeitpunkten 0, 15, 30, 45, 60, 90 Minuten und 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 24 Stunden gewonnen. Aus ihnen wurde die Konzentrationen von Betain, DMG sowie der Aminosäuren tHcy, Methionin, Sarcosin und Serin bestimmt. Die Patienten wurden entsprechend des zugrunde liegenden Enzymdefektes eingeteilt. Darüber hinaus wurden drei Therapiephasen definiert. Gruppe I: keine vorherige Betain-Therapie oder Abbruch einer Betain-Therapie mehr als ein Jahr vor Studienbeginn. Gruppe II: vorausgegangene Betain-Therapie, die 7-10 Tage vor Studienbeginn unterbrochen wurde. Gruppe III: Langfristige, ununterbrochene Betain-Therapie, so genannte Steady-State-Bedingungen. Mittels der gewonnenen Daten wurde ein Zwei-Kompartiment „indirect response“ Modell entwickelt, das Betain, Dimethylglycin und tHcy gleichermaßen berücksichtigte. Methionin wurde entfernt, nachdem es das Modell schwächte.

Die vorliegende Arbeit belegt die schwerwiegenden Auswirkungen beim Ausfall eines der drei Homocystein metabolisierenden Stoffwechselwege mit konsekutiver Dysregulation des gesamten Systems. Die Effektivität der Betain-Behandlung resultiert nach den vorliegenden Daten primär aus dem Ausgleich der mit Hyperhomocysteinämie assoziierten Betain-Depletion und sekundär aus der Steigerung der Betain-Metabolisierung durch erhöhtes Substratangebot. Dies erklärt auch den rasch einsetzenden Sättigungseffekt und die fehlende Effektivität einer Dosissteigerung unter Betain-Therapie. Unter längerfristiger Therapie kommt es zur Akkumulation von Betain und zu einer Sättigung des Betain-Effektes ab einer Dosis von etwa 100 mg Betain / kg KG und Tag. Daraus lässt sich folgern, dass die starke Wirkung der Betain-Supplementation zu Beginn der Therapie auf einer Auffüllung entleerter Betain-Speicher beruht. Mit Erreichen von Konzentrationen im Sättigungsbereich der BHMT lässt sich eine geringere Wirkung nachweisen. Hieraus lässt sich ein therapeutischer Betain-Bedarf von 100 mg / kg Kg und Tag zur Aufrechterhaltung des Effektes ableiten [80].

ABKÜRZUNGEN
Allgemein:

Gruppe I	Betain-Ersteinnahme
Gruppe II	Betain-Pause 7-10 d
Gruppe III	Betain-Dauertherapie, sog. Steady-state Bedingungen

B6	Pyridoxin
B12	Cobalamin
Cbl	Cobalamin
Std	Stunde
SD	Standard deviation, Standard-Verteilung
SEM	Standard Error of the mean
T50	Halbwertszeit
K _m	Michaelis Konstante

Enzyme:

BHMT	Betain-Homocystein-Methyltransferase	EC 2.1.1.5
CBS	Cystathionin-β-Synthase	EC 4.4.1.22
MS	Methionin Synthase	EC 2.1.1.13
MTHFR	Methylentetrahydrofolat-Reduktase	EC 1.5.1.20
DMG DH	Dimethylglycin-Dehydrogenase	EC 1.5.99.2
MMG DH	Monomethylglycin-Dehydrogenase	EC 1.5.99.1
MAT	Methionin-Adenosyltransferase	EC 2.5.1.6
SAHH	S-Adenosyl-Homocystein-Hydrolase	EC 3.3.1.1

Metabolite:

Hcy	Homocystein
tHcy	Gesamt-Homocystein
DMG	Dimethylglycin
MMG	Monomethylglycin = Sarcosin
SAM	S-Adenosyl-Methionin
SAH	S-Adenosyl-Homocystein
Met	Methionin
Ser	Serin
THF	Tetrahydrofolat
5-MTHF	5-Methyltetrahydrofolat
5,10-CH ₂ THF	5,10-Methylentetrahydrofolat

Pharmakokinetische & pharmakodynamische Parameter

V_{\max}	[$\mu\text{mol}/\text{Std} \times \text{L}$]	Enzymaktivität
C_{t_0}	[$\mu\text{mol}/\text{L}$]	Konzentration zum Zeitpunkt t_0
T_{lag}	[Std]	Zeit zwischen Betain-Einnahme und Beginn des Anstiegs der Betain-Konzentration im Plasma
K_{01}	[1/Std]	Absorptionskonstante
C_{\max}	[$\mu\text{mol}/\text{L}$]	Spitzen-Konzentration
C_{\min}	[$\mu\text{mol}/\text{L}$]	Tal-Konzentration
t_{\max}	[Std]	Zeit bis zum Erreichen von C_{\max}
t_{\min}	[Std]	Zeit bis zum Erreichen von C_{\min}
CL_M	[L/Std]	Metabolisierungs-Clearance, d.h. Metabolisierung von Betain zu DMG
CL_D	[L/Std]	Verteilungs-Clearance, d.h. Verteilung von Betain zwischen dem zentralen und dem peripheren Kompartiment
CL_E	[L/Std]	Eliminations-Clearance, bzw. Clearance der DMG-Metabolisierung
V_1	[L]	Verteilungsvolumen des zentralen, d.h. des Plasma-Kompartiments
V_2	[L]	Verteilungsvolumen des peripheren, d.h. des Gewebs-Kompartiments
V_3	[L]	Verteilungsvolumen des Eliminations-, bzw. DMG-Kompartiments
K_{in}	[1/Std]	Hcy-Entstehung durch Transmethylierung von SAM
K_{out}	[1/Std]	Hcy-Abbau durch Transsulfurierung und Remethylierung
$E_{\text{MAX abs}}$	[o.D.]	absoluter maximaler tHcy-senkende Effekt von Betain
$E_{\text{MAX \%}}$	[%]	maximaler Effekt von Betain bezogen auf k_{out} , d.h. prozentualer Betain-induzierter Zugewinn an der tHcy-Elimination
EC_{50}	[mmol/l]	Betain-Konzentration, die einen halb-maximalen tHcy-senkenden Effekt hervorruft
EC_{50}/Dosis	[1/L]	Dosis-korrigierter EC_{50}
$T_{50\text{abs}}$	[Std]	Absorptions-Halbwertszeit
Hcy C = 1	[$\mu\text{mol}/\text{L}$]	tHcy-Konzentration unter Annahme einer kontinuierlichen Betain-Konzentration von 1 mmol/l
Hcy C = 0	[$\mu\text{mol}/\text{L}$]	tHcy-Konzentration unter Annahme einer kontinuierlichen Betain-Konzentration von 0 mmol/l
$\Delta\text{-Hcy}_{\text{Modell}}$	[$\mu\text{mol}/\text{L}$]	Differenz zwischen Hcy C = 1 und Hcy C = 0
S (C = 1)	[o.D.]	Stimulus-Funktion von Betain (indirekt response)
24-Std-Metab	[mmol/kg]	24 Stunden Metabolisierung von Betain
Metab/Dosis	[%]	24-Stunden Metabolisierung bezogen auf die Tagesdosis

1 EINLEITUNG

Verschiedene erblich bedingte Störungen im Methylgruppen-Stoffwechsel führen zur einer schweren Hyperhomocysteinämie mit Homocystinurie. Bei den verschiedenen Formen der Homocystinurie sind die Symptome und Organschäden wahrscheinlich Folge der stark erhöhten Homocystein-Spiegel in Blut und Geweben. Das wichtigste therapeutische Ziel bei der schweren Hyperhomocysteinämie ist daher die Senkung des Gesamt-Homocysteins (tHcy) in einen ungefährlichen, möglichst normalen Konzentrationsbereich. Die langjährige klinische Erfahrung belegt die Effektivität von Betain in der Senkung des tHcy und die Besserung der Symptomatik. Die Absenkung des tHcy erfolgt hierbei durch eine Betain-abhängige Remethylierung mittels des Enzyms Betain-Homocystein-Methyltransferase (BHMT) zu Methionin. Obwohl Betain seit über 35 Jahren in der Behandlung der Hyperhomocysteinämien / Homocystinurien verwendet wird, ist wenig über die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik bekannt. Diese sind Gegenstand der vorliegenden Untersuchung.

1.1 Homocystein

Homocystein (Hcy) ist ein schwefelhaltiges Intermediärprodukt im Stoffwechsel der essentiellen Aminosäure Methionin, das nicht in Nahrungsproteinen enthalten ist. Hcy liegt im Plasma in unterschiedlichen Formen vor: etwa 80 – 90 % sind über eine Disulfid-Brücke an ein Protein, im Allgemeinen an Albumin, gebunden, während 10 – 20 % frei, nicht an Proteine gebunden vorliegen. Die Sulfhydrylgruppe des freien Hcy ist bei physiologischem pH sehr anfällig gegenüber Oxidation. Entsprechend bilden sich sehr leicht Homocystin (Hcy-Hcy), ein Homodimer aus zwei Homocystein-Molekülen, oder Heterodimere mit anderen Thiolen. Im letzt genannten Fall reagiert Hcy hauptsächlich mit Cystein unter Bildung des gemischten Disulfids Homocystein-Cystein (Hcy-Cys). Nur ein sehr geringer Anteil (< 2 %) des gesamten im Blut zirkulierenden Homocystein liegt in freier reduzierter SH-Form vor (Tab. 1.1)

Tab. 1.1: Formen des Homocysteins im Plasma [1, 2]

Freies reduziertes Homocystein, Sulfhydryl-Form	< 2%	< 0,5 µmol/L
Homocystin	5-10%	0-2 µmol/L
Gemischtes Homocystein-Cystein Disulfid	5-10%	0-2 µmol/L
Proteingebundenes Homocystein	80-90%	0-7 µmol/L
Gesamt-Homocystein	100%	< 15 µmol/L

Im Plasma werden die Konzentrationen für Hcy üblicherweise als Gesamt- Homocystein (tHcy) in µmol/L angegeben. Der normale Referenzbereich für tHcy liegt zwischen 5 und 15 µmol/L im Nüchternzustand [3, 4]. Er ist deutlich abhängig von Alter, Geschlecht (bei Frauen niedriger als bei

Männern), Lebensstil und Vitamin-Status eines Menschen [2]. Ein Anstieg der tHcy-Konzentration um 5 µmol/L resultiert in einem Anstieg des Risikos für die kardiovaskuläre Mortalität um 50% [5].

Die Hyperhomocysteinämie wird nach Höhe von tHcy in drei Schweregrade unterteilt. Bei einer milden Hyperhomocysteinämie liegt tHcy unter 30 µmol/L, bei einer moderaten Form zwischen 30 und 100 µmol/L und bei der schweren Hyperhomocysteinämie über 100 µmol/L [6]. Bei Vitaminmangel-Zuständen [2], chronische Lebererkrankungen [7, 8], Erkrankungen mit eingeschränkter Nierenfunktion [9] sowie bei der Behandlung mit Methotrexat kann eine milde bis moderate Hyperhomocysteinämie mit tHcy-Konzentrationen bis etwa 50 µmol/L auftreten. Eine milde Hyperhomocysteinämie findet sich bei circa 6-7 % Menschen der Normalpopulation [10, 11]. Bei einer milden oder moderaten Hyperhomocysteinämie besteht keine Homocystinurie, d.h. die plasmatische Konzentration des freien Homocysteins überschreitet nicht die Nierenschwelle und es kommt somit nicht zu einer Ausscheidung von Homocystin im Urin. Zu einer Homocystinurie als Folge einer schweren Hyperhomocysteinämie mit Werten > 100 µmol/L kommt es hingegen bei verschiedenen erblichen Störungen im Methylgruppen-Stoffwechsel.

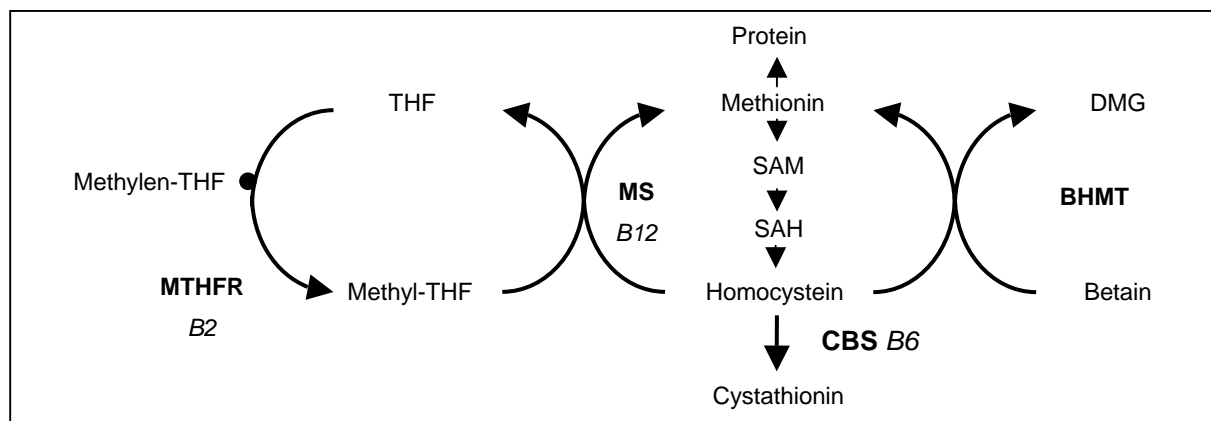
1.2 Methylgruppen-Stoffwechsel

Die essentielle Aminosäure Methionin wird für die Proteinsynthese benötigt und ist nach Umwandlung zu S-Adenosyl-Methionin (SAM) der hauptsächliche Methylgruppendonor für über 150 Enzyme (Methyltransferasen), welche Methylgruppen auf DNS, RNS, Proteine, Lipide und andere Moleküle übertragen. (Abb. 1.1) Bei allen diesen Methyltransferase-Reaktionen wird SAM in S-Adenosyl-Homocystein (SAH) umgewandelt, das wiederum ein starker Inhibitor zahlreicher Methyltransferasen ist. SAH wird zu Adenosin und Homocystein hydrolysiert. Die drei Substanzen stehen in einem reversiblen Gleichgewicht. Um eine ungestörte Transmethylierung zu gewährleisten, müssen diese Produkte sehr effektiv aus der Zelle entfernt werden. Homocystein wird zu etwa gleichen Teilen entweder zu Methionin remethyliert und dient so zur Aufrechterhaltung des intrazellulären Methionin-Gehaltes, oder es wird auf dem Wege der Transsulfurierung durch die Cystathionin-Beta-Synthase (CBS) über Cystathionin zu Cystein abgebaut [12-14]. Von dort erfolgt der weitere Abbau letztlich zu anorganischem Sulfat und Taurin.

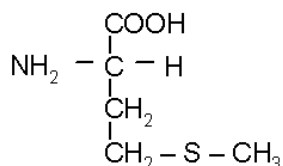
Bei der Remethylierung von Homocystein zu Methionin werden endogene und exogene (über die Zufuhr von Methionin, Cholin und Betain) Methylgruppen in den körpereigenen Methylgruppen-Pool aufgenommen. Dabei fungiert in sämtlichen Organen 5-Methyl-Tetrahydrofolat (MTHF), Substrat der 5-MTHF:Homocystein-Methyltransferase = Methionin-Synthase (MS), als Methylgruppen-Donor. Das Enzym MS transferiert diese Methylgruppe unter Vermittlung des Cofaktors Methylcobalamin auf Homocystein unter Bildung von Methionin. Ein alternativer Methylgruppendonor ist das endogen aus Cholin gebildete oder exogen zugeführte Betain. Diese Methylgruppe wird durch das in Leber und Niere vorhandene Enzym Betain-Homocystein-Methyltransferase (BHMT) auf Homocystein unter

Bildung von Methionin und Dimethylglycin übertragen. Ein fein abgestimmtes Regulations-System bestimmt, ob Hcy der Transsulfurierung oder der Remethylierung zugeführt wird. Dadurch wird sichergestellt, dass immer ausreichend und nicht zu viel Methionin und SAM entstehen. SAM ist dabei die Stellgröße [15, 16].

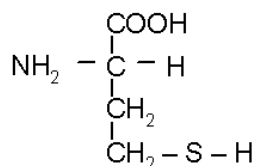
Abb. 1.1: Methylgruppen-Stoffwechsel: Intermediärprodukte einfach, Enzyme fett und Cofaktoren kursiv dargestellt.



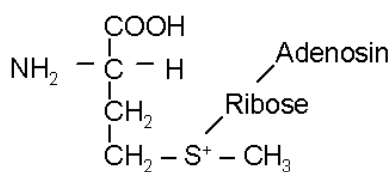
1.3 Strukturformeln



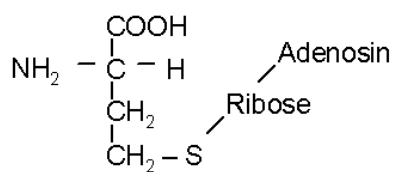
Methionin



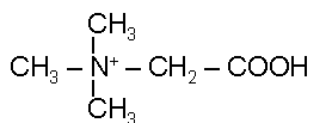
Homocystein



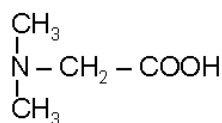
S-Adenosylmethionin



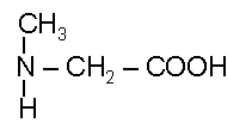
S-Adenosylhomocystein



Betain



Dimethylglycin



Sarcosin

1.4 Ursachen einer schweren Hyperhomocysteinämie

Der Begriff Homocystinurie bezeichnet seltene Krankheitsbilder, welche durch typische klinische Zeichen in Verbindung mit pathognomonischen biochemischen Veränderungen definiert sind. Es findet sich eine starke Erhöhung von tHcy im Plasma auf Werte über 100 µmol/L, sowie eine Erhöhung des freien Homocystins, was zur Ausscheidung des Disulfids Homocystin im Urin führt. Klinische Symptome umfassen vorwiegend Zeichen einer chronischen Enzephalopathie mit einer Vielzahl neurologischer aber auch psychiatrischer Auffälligkeiten. Daneben bestehen in erster Linie Zeichen der Vaskulopathie mit thrombotischen oder thromboembolischen Gefäßverschlüssen. Bei einigen Formen findet man Bindegewebsveränderungen und eine Hepatopathie.

Zu einer schweren Hyperhomocysteinämie mit Homocystinurie kommt es:

- Bei gestörter Transsulfurierung infolge eines erblichen Defekts der Cystathionin-β-Synthase (CBS).
- Bei gestörter tHcy-Remethylierung mit niedrigem MTHF infolge eines Aktivitätsmangels der 5, 10-Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR).
- Bei gestörter tHcy-Remethylierung mit normalem oder erhöhtem MTHF infolge einer verminderten Aktivität der Methionin-Synthase (MS) oder einer Synthesestörung ihres Cofaktors Methyl-Cobalamin (Cbl).

1.4.1 Cystathionin-β-Synthase-Mangel

Der sog. klassischen Homocystinurie liegt ein Aktivitätsmangel des Enzyms CBS zugrunde. Sie tritt mit einer geschätzten Inzidenz von etwa 1:350.000 weltweit auf. Für Deutschland wird die Inzidenz auf 1:130.000 geschätzt. Das für das cytosolische Enzym CBS codierende Gen ist auf dem Chromosom 21q22.3 lokalisiert. Es ist ein Homotetramer mit Bindungsstellen für Häm, Pyridoxalphosphat und SAM, welche die Enzymaktivität regulieren. Es sind mehr als 100 pathogene Mutationen im CBS-Gen bekannt. Ca. 50 % der Patienten mit einem CBS-Mangel sind Pyridoxin-(Vitamin-B6) responsiv, d.h. unter pharmakologischer Dosierung von Pyridoxin wird die Enzymrestaktivität des Enzyms dermaßen gesteigert, dass es zu einer signifikanten Senkung des stark erhöhten Homocysteinspiegels im Plasma kommt.

Die bei Geburt unauffälligen Patienten entwickeln in der Kindheit und Adoleszenz Symptome an Augen, Skelett, Zentralnerven- und Gefäßsystem. Zwischen dem 3. und 10. Lebensjahr tritt nahezu obligat eine Luxation der Linsen, charakteristischerweise bilateral auf. Weitere okuläre Symptome sind Myopie, Irisflattern, Astigmatismus, Glaukom und Katarakt. Netzhautablösungen und Optikusathrophie scheinen Folge eines thromboembolischen Verschlusses der zentralen Retinaarterie zu sein. Weitere klinische Symptome sind eine livide Hautveränderung an Wangen und Extremitäten (Livedo reticularis), andere betreffen das Skelettsystem und äußern sich primär als eine an der Wirbelsäule

beginnende Osteoporose mit Generalisierungstendenz. Ein großer Teil der Patienten entwickelt einen marfanoiden Habitus mit Arachnodaktylie, dysproportioniertem Hochwuchs, Genua valga, Kyphoskoliose, Trichterbrust und Fußfehlstellungen. Diese Symptome werden durch eine Störung der Kollagenvernetzung (Inaktivierung der Lysyloxidase durch Hcy) verursacht.

Hcy führt auf bisher nicht vollständig geklärtem Weg zu einer Gefäßläsion, mit nachfolgenden arteriosklerotischen Veränderungen und Thromboembolien sowie zu einer Störung der Kollagenstruktur. Thromboembolien betreffen sowohl den arteriellen wie auch den venösen Schenkel. Rezidivierende cerebrale Thromboembolien führen zu einer progredienten Enzephalopathie. Das hohe thromboembolische Risiko bildet das zentrale und lebensbedrohliche Problem der Homocystinurie. Bereits vor dem 20. Lebensjahr ist ohne Therapie bei einem Drittel der Patienten ein thromboembolisches Ereignis aufgetreten; bis zum 30. Lebensjahr steigt das Risiko sogar auf 50% an. Thromboembolien können in allen venösen und arteriellen Bereichen auftreten, so im Bereich der Lungenarterien, Koronararterien, Beckenvenen, Vena cava etc. [17]. Etwa die Hälfte der Patienten hat eine verzögerte psychomotorische Entwicklung und ist mental retardiert. Es kann zu extrapyramidalen Bewegungsstörungen kommen. Die Zerebralschäden lassen sich zum Teil durch rezidivierende Thromboembolien der Hirngefäße mit Hirninfarkten erklären, aber auch Homocysteinsäure, welche Neurotoxizität über die Glutamat-Rezeptoren entfaltet, dürfte eine Rolle spielen.

Im Plasma sind Hcy und Methionin erhöht. Die Konzentration des Hcy kann 250 $\mu\text{mol/L}$ übersteigen. Methionin kann, bis auf das 50fache der Norm (normal $< 30 \mu\text{mol/L}$) ansteigen. Homocystin wird im Urin in großen Mengen ausgeschieden. Patienten mit einer Pyridoxin-responsiven CBS-Mutation weisen einen milden Phänotyp unter Behandlung auf, d.h. die oben aufgeführten Symptome finden sich in voller Ausprägung ausschließlich bei Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel. Bei etwa 1 % der Normalbevölkerung findet sich eine Mutation im Gen der CBS in heterozygoter Form. Träger dieser Mutation haben höhere tHcy-Werte nach Methionin-Belastung und ebenfalls ein erhöhtes Risiko für Gefäßerkrankungen [18].

1.4.2 Methylentetrahydrofolat-Reduktase-Mangel

Bei einem MTHFR-Mangel ist die Remethylierung von Hcy zu Methionin aufgrund einer ungenügenden Bildung des Methylgruppen-Donors MTHFR, dem Cofaktor der Methionin-Synthase (MS), gestört. Das für das Enzym codierende Gen ist auf dem kurzen Arm des Chromosom 1 lokalisiert. Es sind mehr als 50 pathogene Mutationen bekannt. Circa 100 Patienten mit einem MTHFR-Mangel sind beschrieben. Es lassen sich drei Manifestationsformen unterscheiden. Die neonatale Form manifestiert sich in den ersten drei Lebensmonaten, meist mit Trinkschwäche, Hypotonie, Lethargie und Krampfanfällen und es kommt zu einer frühzeitigen Enzephalopathie. Bei der infantilen Form treten Symptome vor dem 10. Lebensjahr auf, wobei die Diagnose aufgrund des unspezifischen Verlaufs erschwert ist. Eine Verzögerung der psychomotorischen und sprachlichen

Entwicklung wird im Verlauf des ersten Lebensjahres bemerkbar. Es gehören Mikrocephalie, Krampfanfälle, Apnoe-Zustände und zerebrovaskuläre Symptome zum Krankheitsbild. Eine spät-infantile / adulte Form kann später in jedem Alter mit mentaler Beeinträchtigung und neurologischen Zeichen wie Tremor, Ataxie, Gangstörungen sowie psychiatrischen Schizophrenie-ähnlichen und zerebrovaskulären Symptomen beginnen. Der Cerebralschaden wird wahrscheinlich durch eine gestörte Myelinisierung infolge des intrazellulären Methionin- und SAM-Mangels mit der Folge einer gestörten Bildung des methylierten Basic Myelin Protein (BMP) hervorgerufen sowie durch Thromboembolien in den Hirngefäßen. Es besteht eine mäßiggradige Homocystinurie, eine Hypomethioninämie (die Methionin-Konzentrationen variieren zwischen 0 und 18 $\mu\text{mol/L}$) und eine schwere Hyperhomocysteinämie mit Werten zwischen 100 und 200 $\mu\text{mol/L}$. Im allgemeinen sind die Hcy-Konzentrationen im Plasma niedriger als die bei Patienten mit einem CBS-Mangel [19]. In der Allgemeinbevölkerung sind 5-15 % homozygote Träger einer thermolabilen Variante mit Punktmutation im Nukleotid an Position 677 (MTHFR 677C \rightarrow T). Die Enzymaktivität ist bei den Betroffenen um circa 50% reduziert. Träger dieser Mutation reagieren daher besonders sensibel auf einen Mangel an Folat mit einer tHcy-Erhöhung um ca. 25 % (\cong 2,6 $\mu\text{mol/L}$) [20]. Träger dieser Mutation weisen eine Risikoerhöhung von 16-23 % für Gefäßerkrankungen auf, die mit der tHcy-Erhöhung bzw. dem Folatmangel zu erklären ist [21].

1.4.3 Störungen im Cobalamin-Stoffwechsel

Auch hereditäre Defekte im intrazellulären Cobalamin (Vitamin B₁₂) -Stoffwechsel, eingeteilt in die Komplementationsgruppen CblA bis CblG, führen zu einem deutlichen Anstieg der Hcy-Konzentration im Plasma und meist auch zu einer Homocystinurie. Vergleichbar mit dem MTHFR-Mangel sind sie mit erniedrigten Methionin- und SAM-Konzentrationen assoziiert. Bei diesen Störungen können grundsätzlich die beiden cobalaminabhängigen Enzyme Methylmalonyl-CoA Mutase und Methionin-Synthase in ihrer Funktion beeinträchtigt sein. Entsprechend können vor den gestörten Enzymschritten Homocystein und/oder Methylmalonsäure akkumulieren. Hohe Hcy-Spiegel in Kombination mit einer Methylmalonazidämie werden bei den Komplementationsgruppen CblC, Cbl D und Cbl F gefunden. Dagegen ist bei den Defekten Cbl E und Cbl G nur die Aktivität der Methionin-Synthase beeinträchtigt und es kommt zur isolierten Hyperhomocysteinämie. Am häufigsten in dieser Krankheitsgruppe ist der CblC-Mangel. Die meisten Patienten mit dieser Erkrankung sind im ersten Lebensmonat akut krank. Hauptsymptome dieser frühmanifesten Form sind Trinkschwäche und Gedeihstörung, Lethargie, muskuläre Hypotonie, Krampfanfälle und eine gestörte psychomotorische Entwicklung. Einige Patienten haben hämatologische Symptome wie makrozytäre Anämie, Neutro- und Thrombopenie. Zum Teil bestehen okulomotorische Symptome wie Nystagmus und eine ungewöhnliche Form von Retinopathie. Leberfunktionsstörung und ein hämolytisch-urämisches Syndrom können vorkommen. Bei späterer Krankheitsmanifestation im frühen Kleinkindesalter stehen Ataxien und Pyramidenbahnzeichen im Vordergrund. Bei erst im Erwachsenenalter diagnostizierten

Fällen stehen Gangstörungen aufgrund einer Myelopathie, Zeichen von Neuropathie und Leukodystrophie sowie Demenz im Vordergrund.

1.5 Therapie der Homocystinurien

Das primäre Therapieziel ist die Senkung der unterschiedlich stark erhöhten Plasma-tHcy-Werte. Bei den Remethylierungsdefekten muss auch eine Normalisierung der verminderten Methionin-Konzentration im Plasma angestrebt werden. Deshalb unterscheidet sich die Behandlung in Abhängigkeit vom zugrunde liegenden Enzymdefekt.

Beim CBS-Mangel wird man in jedem Falle versuchen, durch pharmakologische Dosen von Pyridoxin eine Senkung des tHcy-Spiegels zu erzielen. Etwa 50 % der Patienten mit CBS-Mangel sind Pyridoxin-responsiv, und tHcy kann deutlich gesenkt werden, manchmal sogar bis in den Normbereich. Bei Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel wird eine proteinarme Diät mit deutlicher Reduktion des Methioningehalts in der Nahrung bei gleichzeitiger Verabreichung von Cystein angestrebt. Eine zusätzliche Senkung des tHcy kann durch Betain erfolgen.

Im Falle eines MTHFR-Mangels wird durch die Supplementation von Cobalamin und Folat versucht die Enzymrestaktivität, bzw. die Remethylierungsrate zu steigern, wobei dies nur selten zu einer befriedigenden Senkung von tHcy führt. Die einzige effektive Möglichkeit ist die Behandlung mit Betain. Dadurch sinkt nicht nur tHcy ab, sondern auch das erniedrigte Methionin steigt an. Bei den Cbl-Defekten müssen die Spiegel von Methionin und tHcy im Plasma durch parenterale Gaben von Hydroxy-Cobalamin und Betain oral so weit wie möglich normalisiert werden. In der Regel bleiben, wie auch beim MTHFR-Mangel, mäßig erhöhte Plasma-tHcy-Spiegel bestehen.

Erfahrungsgemäß sinkt der tHcy-Spiegel trotz maximaler Therapie bei Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel und mit MTHFR-Mangel selten unter 40-50 µmol/L [22-24]. Dies trifft nicht auf Patienten mit einem Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel oder Cobalamin-Defekten zu [25].

Tab. 1.2: Therapie der verschiedenen Formen der Homocystinurie

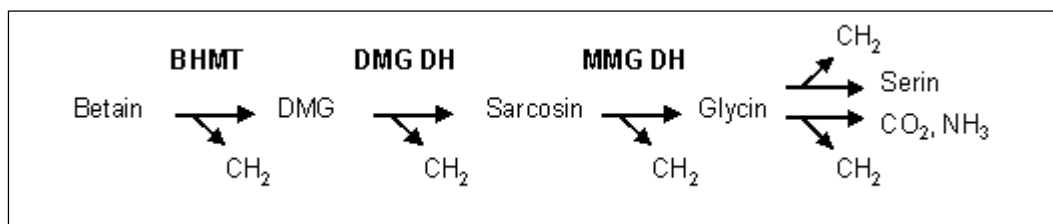
Defekt	Folat	Cobalamin	Pyridoxin	Diät	Betain
CBS Pyridoxin-responsiv			+	(+)	(+)
CBS Pyridoxin-non-responsiv			(+)	+	+
MTHFR	(+)				+
Cbl C/D	(+)	+			+
MS	(+)	(+)			+

1.6 Betain

Erstmals wurde 1968 Cholin, ein Vorläufer des Methylgruppendonors Betain, bei einem Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel angewendet [22]. In langjähriger klinischer Anwendung zeigte sich, dass in Patienten mit einer schweren Hyperhomocysteinämie aufgrund eines CBS- [23] oder MTHFR-Mangels [24, 26] die Supplementation von Betain die biochemischen Abnormalitäten und den klinischen Verlauf verbessert. Es senkt erhöhte tHcy-Spiegel und erhöht die Konzentration von Methionin und SAM. Jedoch zeigte sich, dass auch hohe Dosen von Betain den Hcy-Stoffwechsel in Homocystinurie-Patienten nicht normalisieren und tHcy-Spiegel 5-10fach erhöht bleiben [22, 23]. Auch bei moderater Hyperhomocysteinämie [27] sowie in gesunden Probanden [28-31] konnte ein tHcy-senkender Effekt von Betain nachgewiesen werden.

Betain (N,N,N-Trimethylglycin) ist ein Intermediärprodukt im Cholin-Stoffwechsel (Abb. 1.1). Es ist ausschließlich Substrat des cytosolischen Enzym Betain-Homocystein-Methyltransferase (BHMT). In der Enzymreaktion fungiert Betain als Methylgruppendonator bei der Überführung von tHcy zu Methionin. Produkt dieser Enzymreaktion ist Dimethylglycin (DMG), welches mittels Dimethylglycin-Dehydrogenase (DMG-DH) weiter zu Sarcosin (Monomethylglycin, MMG) abgebaut wird (Abb. 1.2).

Abb. 1.2: Darstellung der Metabolisierung von Betain



Sarcosin wird dann weiter durch die Sarcosin-Dehydrogenase (MMG DH) zu Glycin abgebaut. Die beiden letztgenannten Enzyme sind Riboflavin-abhängig und bei jeder Reaktion wird eine Methylengruppe freigesetzt. Glycin kann entweder zu Serin umgewandelt werden oder dem so genannten Glycin-Cleavage-System zugeführt werden, in dem es irreversibel zu Kohlendioxid und Ammoniak abgebaut wird. Auch die letzt genannten Reaktionen liefern jeweils eine Methylengruppe, die indirekt, d.h. über MTHFR, der Transmethylierung zur Verfügung steht.

Betain ist bei neutralem pH ein Zwitterion. In der Natur kommt es in Zellen vor, die einem osmotischen Stress ausgesetzt sind; so zum Beispiel in vielen Pflanzen und bei Säugern im Nierenmark [32]. Es hat die Funktion eines organischen Osmolyts zur Aufrechterhaltung des normalen Zellvolumen [33]. Wie andere Osmolyte fungiert auch Betain als Chaperon und schützt die Zelle vor Proteindenaturierung [34].

Betain wird im menschlichen Körper durch irreversible Oxidation von Cholin gebildet [14, 35]; außerdem wird es mit der Nahrung, z.B. in roter Beete, Spinat, Getreide und Meeresfrüchten [36], aufgenommen. Die tägliche Betain-Aufnahme liegt schätzungsweise zwischen 0,1 und 1,0 g [36]. Die in Nahrungsmitteln enthaltenen Mengen an Betain sind jedoch insgesamt gering und reichen nicht für eine Senkung erhöhter Plasma-tHcy-Spiegel aus [36]. Die aktuellsten Literaturangaben geben einen Normalwert für Betain, bzw. DMG im Plasma von 31,7 $\mu\text{mol/L}$ (27,0-41,1 $\mu\text{mol/L}$) bzw. 1,66 $\mu\text{mol/L}$ (1,30-2,02 $\mu\text{mol/L}$) an (Tab. 1.3) [37, 38]. Die Betain-Plasma-Konzentration variiert deutlich zwischen verschiedenen Individuen (9-90 $\mu\text{mol/L}$), zeigt jedoch eine geringe intraindividuelle Variation. Betain ist seit kurzer Zeit für die Behandlung der Homocystinurien zugelassen. Daneben wurden mehrere Studien zum Einsatz von Betain in der Behandlung der nicht alkoholischen Fettleber, sowie von Morbus Parkinson und Schizophrenie publiziert [39-41].

1.6.1 Betain-Homocystein-Methyltransferase

Das zinkhaltige cytosolische Enzym Betain-Homocystein-Methyltransferase (BHMT) katalysiert den Transfer einer Methyl-Gruppe von Betain zu tHcy unter der Bildung von DMG und Methionin. Es benötigt im Gegensatz zu den Enzymen CBS und MTHFR keine Cofaktoren, insbesondere kein Folat, Cobalamin oder Pyridoxin. Die BHMT wird sowohl in der Leber als auch in der Niere, jedoch nicht im Zentralnervensystem exprimiert [42]. Die BHMT ist eines der hepatischen Hauptproteine und macht 0,6-2 % der gesamten löslichen Proteine der Leber aus. Die BHMT Expression steigt dramatisch, wenn unter Methionin-restriktiver Diät Cholin oder Betain verabreicht werden [43, 44].

Die Michaelis-Konstanten (K_m) betragen in Menschen für Betain 2,2 mM und für tHcy 4,0 μM [42, 45]. Die Konzentration der Metabolite Betain und tHcy in der menschlichen Leber sind bisher unbekannt. In Nagetieren beträgt die hepatische Betain-Konzentrationen in Abhängigkeit von der exogenen Zufuhr von Cholin und Betain 0,5 bis 10 $\mu\text{mol/g}$ [46, 47]. Diese Konzentration übersteigen die artspezifischen K_m 's , so dass wenigstens in Nagetieren von einer Sättigung der BHMT mit Betain ausgegangen werden muss. Unter Annahme einer vergleichbaren Betain-Konzentration in menschlicher Leber ergäbe sich eine unvollständige Sättigung der BHMT mit Betain beim Menschen.

DMG, SAH und SAM haben einen signifikanten inhibitorischen Effekt auf die BHMT [14, 44]. Da SAH und SAM gleichzeitig die CBS aktivieren, entscheiden ihre Konzentrationen darüber, ob tHcy der Remethylierung oder der Transsulfurierung zufließt. Darüber hinaus wird die Folat-abhängige Remethylierung durch inhibitorische Effekte von SAM auf MTHFR und SAH auf MS gehemmt. Daraus ergibt sich die bedeutende regulatorische Wirkung von insbesondere SAM, jedoch auch SAH im Methyl-Gruppen-Stoffwechsel. Diese Regulation bricht bei schwerwiegendem Aktivitätsmangel der Enzyme CBS oder MTHFR durch genetische Defekte der jeweiligen Apoenzyme oder genetisch bzw. diätetisch bedingte Kofaktor-Mangel zusammen [48].

2 PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patienten

Insgesamt wurden dreizehn Patienten (acht weibliche und fünf männliche) mit einer schweren Hyperhomocysteinämie aufgrund eines angeborenen homozygoten CBS- oder MTHFR-Defektes in die Studie aufgenommen. Die Altersspanne der Patienten betrug 2 bis 41 Jahren. Vier zusätzliche Patienten mit einem Cobalamin-Defekt konnten aufgrund nicht ausreichender Daten nicht für die PK-PD-Analyse herangezogen werden.

Alle Patienten wiesen zum Zeitpunkt der Untersuchung einen guten körperlichen Untersuchungsbefund und normale Vitalzeichen auf. Der BMI der Patienten lag im Normalbereich (18,5 – 24,9 kg/m²). Rechtzeitig vor Untersuchungsbeginn gaben die Patienten oder im Falle der Minderjährigkeit die Eltern das schriftliche Einverständnis zu der Teilnahme an der Studie. Die Patienten wurden wegen der Homocystinurie in den Pädiatrischen Stoffwechsellaboren Düsseldorf, Münster, Berlin, Heidelberg oder Leuven betreut.

2.1.1 Gruppeneinteilung - Enzymdefekt

Die Patienten wurden aufgrund ihres Defektes im Methyl-Gruppen-Stoffwechsels den drei folgenden Gruppen zugeordnet:

Cystathionin- β -Synthase-Mangel	CBS-Mangel	(n=6)
Methylenetetrahydrofolat-Reduktase-Mangel	MTHFR -Mangel	(n=7)
Cobalamin-Defekt	Cbl-Defekt	(n=4)

Patienten mit CBS-Mangel

Die Patientengruppe mit einem CBS-Mangel schloss vier weibliche und zwei männliche Patienten im Alter von 12 bis 41 Jahren ein. Die Patienten unterschieden sich weiterhin hinsichtlich ihrer Pyridoxin-Responsivität. Zwei Patientinnen waren Träger eine Pyridoxin-responsiven Mutation, drei Träger einer Pyridoxin-non-responsiven Mutation und eine Patientin war Trägerin einer bisher einzigartigen Mutation innerhalb der regulatorischen Domäne des CBS-Genes und wurde in der Literatur als partiell-pyridoxin-responsiv beschrieben [51]. In der biochemischen Charakterisierung entsprachen ihre Parameter jedoch denen der Pyridoxin-non-responsiven Patienten, so dass sie im Folgenden, falls nicht gesondert aufgeführt, dieser Gruppe zugeteilt wurde. Drei Patienten wurden in unterschiedlichen Therapiephasen und nach Veränderung der Dosis, bzw. Dosisfrequenz erneut untersucht.

Patienten mit Pyridoxin-responsiver Mutation

Die Patientinnen BE und BIN sind Trägerinnen einer Pyridoxin-responsiven CBS-Mutation. Beide hatten vor Studienteilnahme niemals zuvor Betain eingenommen.

Bei BE wurde erst 24 Stunden vor Beginn der Studie mit Betain ein CBS-Mangel diagnostiziert. Sie erhielt erstmals am Vorabend (12 Stunden vor Studienbeginn) 1000 mg Pyridoxin. Darunter fiel die tHcy-Konzentration von initial 312 µmol/L auf 40 µmol/L zum Beginn der Betain-Belastung im Rahmen der Studie.

BN (3 Betain-Belastungen im Rahmen der Studie) wurde seit der Diagnosestellung im Kindesalter kontinuierlich und ausschließlich mit Pyridoxin behandelt. Zum Zeitpunkt der ersten Betain-Belastung wurde die Behandlung mit 3 x 300 mg Pyridoxin täglich durchgeführt. Da tHcy darunter weiterhin oberhalb des Normbereiches lag, wurde 6 Monate vor der zweiten Betain-Belastung die Pyridoxin-Dosis schrittweise auf 3 x 900 mg erhöht. Zusätzlich erfolgte 2 Monate vor der zweiten Studienteilnahme ein Therapieversuch mit 4 x 1000 µg Vitamin B12 i.m. im Abstand von 7 Tagen. Beides führte zu keinerlei weiteren Senkung des tHcy-Spiegels. Nachdem sich unter der erstmaligen Verabreichung von Betain eine deutliche Senkung der tHcy-Konzentration abzeichnete, wurde im Verlauf eine dauerhafte Supplementierung mit 2 mal täglich 50 mg Betain / kg eingeleitet. Zum Zeitpunkt der zweiten Betain-Belastung nahm die Patientin seit 16 Tagen 2 x 50 mg Betain / kg ein und setzte die Medikation mit 3 x 900 mg Pyridoxin fort. Eine dritte Betain-Belastung erfolgte 3 Monate nach Beginn der Betain-Dauertherapie.

Patienten mit Pyridoxin-non-responsiver Mutation

Die männlichen Patienten LG und AH sind Träger einer Pyridoxin-non-responsiven Mutation. Beide Patienten erhielten bereits vor Studienteilnahme eine langfristige Therapie mit Betain, wobei LG die Einnahme circa ein Jahr vor Studienbeginn selbständig unterbrach und nicht wieder aufnahm. Hingegen befand sich der Patient AH zum Zeitpunkt seiner Studienteilnahme unter Betain-Langzeittherapie, wobei die Supplementierung eine Woche vor Betain-Belastung unterbrochen wurde. Die Compliance bezüglich der Medikamenteneinnahme vor Studienteilnahme war jedoch als schlecht einzuschätzen.

Patientin mit partiell Pyridoxin-responsiver Mutation

LJ wurde im Rahmen der Studie zweimal unter jeweils variierten Studienbedingungen untersucht. Es lagen Hinweise auf eine nur unregelmäßige Betain-Einnahme vor Studienteilnahme vor, wobei die Compliance bezüglich der Betain-Einnahme zwischen der ersten und zweiten Betain-Belastung deutlich gestiegen ist. Wie bereits oben erwähnt wies die Patientin bei der molekulargenetischen Analyse eine homozygote G₁₃₃₀A Transition auf, was auf Proteinebene einem Aminosäureaustausch von Aspartat zu Asparagin (D444N) entspricht. Diese Mutation betrifft die regulatorische Einheit der CBS. Diese Patientin wurde in der Literatur als partiell Pyridoxin-responsiv beschrieben [51]. Ihre Laborwerte entsprachen jedoch den Patienten mit einer Pyridoxin-non-responsiven CBS-Defekt.

Tab. 2.1: Daten der Patienten mit CBS-Mangel

Initialien	Geschlecht	Alter [Jahre]	Pyridoxin- Responsivität	Körpergewicht [kg]	Betain-Einzeldosis [mg/ kg]	Betain-Tagesdosis [mg/ kg x d]
BE	w	14	+	74,4	40	80
BN1	w	40	+	80,1	50	50
BN2	w	40	+	80,1	50	50
BN3	w	41	+	82,0	50	50
LJ1	w	25	+/-	95,0	50	50
LJ2	w	25	+/-	91,0	50	300
LG	m	21	-	70,0	100	200
YN1	w	13	-	52,0	77	462
YN2	w	14	-	51,9	50	300
AH	m	12	-	42,4	50	50

Patienten mit MTHFR-Mangel

An der Studie nahmen vier weibliche und drei männliche Patienten mit einem MTHFR-Mangel im Alter von 5 bis 21 Jahren teil. Bei allen Patienten wurde ein Cobalamin- oder Folat-Mangel laborchemisch vor Studienbeginn ausgeschlossen. Die Betain-Supplementation der Geschwister ZES und ZEM wurde circa ein Jahr vor Studienteilnahme von den Eltern abgebrochen und nicht wieder aufgenommen. Die Geschwister BH und BF, sowie die Patientin UM erhielten eine kontinuierliche, langzeitige Betain-Therapie, welche 7 – 10 Tage vor Studienteilnahme unterbrochen wurde. Dahingegen wurde die Betain-Dauertherapie der Patientinnen UN und MC vor Studienbeginn nicht unterbrochen. Die letztgenannten Patienten erhielten letztmalig 12 Stunden vor der Applikation der Studiendosis ihr reguläre Betain-Dosis und befanden sich damit zum Zeitpunkt der Studie unter so genannten Steady-State Bedingungen.

Tab. 2.2: Daten der Patienten mit MTHFR- Mangel

Initialien	Geschlecht	Alter [Jahre]	Körpergewicht [kg]	Betain-Einzeldosis [mg/ kg]	Betain-Tagesdosis [mg/ kg x d]
UN	w	5	18,7	80	240
BH	m	8	25,0	50	100
BF	m	13	41,5	50	100
MC	w	20	64,0	94	188
UM	w	21	80,9	80	80
ZS	w	10	40,1	50	50
ZM	m	5	22,0	50	50

2.1.2 Gruppeneinteilung - Therapiephase

Es wurden drei Therapiephasen definiert. I keine vorherige Betain-Therapie, II vorausgegangene Betain-Therapie, die 7-10 Tage vor Studienbeginn unterbrochen wurde und III langfristige, nicht unterbrochene Betain-Supplementation. Die Patienten wurde diesen drei Therapiephasen zugeteilt, wobei der zugrunde liegenden Enzymdefekt dabei unberücksichtigt blieb. Im Folgenden wird die Zuteilung der Patienten zu den entsprechenden Therapiephasen, bzw. Behandlungsgruppen I bis III dargestellt.

A) Patienten ohne aktuelle Betain-Therapie:

Behandlungsgruppe I:

- a) Keine vorherige Betain-Therapie (BE, BN1)
- b) Vorherige Betain-Therapie, die mindestens ein Jahr vor Studienbeginn beendet wurde (LG, ZM, ZS)

Behandlungsgruppe II:

- a) Vorherige Betain-Therapie, die 7 – 10 Tage vor Studienbeginn ausgesetzt wurde (BH, BF, LJ1, LJ2, UM)

B) Patienten unter dauerhafter Betain-Therapie:

Behandlungsgruppe III:

- a) Betain-Therapie für mindestens 3 Monate (BN3, MC, UN, YN, AH)

Pyridoxin-responsive Patienten nehmen eine Sonderrolle ein. Die Gabe von Vitamin B6 stellt bereits eine effektive Therapie dar.

2.1.3 Gruppeneinteilung – Dosis & Dosisfrequenz

Für die Untersuchung des Einflusses der Dosis und der Dosisfrequenz auf die PK/PD von Betain erhielten die Patienten unterschiedliche Dosisregime. In Tabelle 2.4 sind die Studienpatienten sortiert nach Anzahl der verabreichten Dosen und nach Höhe der Einzeldosis (50 – 100 mg/kg KG) aufgelistet. Die Dosen variieren besonders stark in der Behandlungsgruppe III, da die Studiendosis möglichst wenig von der regulären Behandlung abweichen sollte, um Effekte durch Änderung im Behandlungsregime zu minimieren. Einige Patienten wurden mehrfach, unter veränderter Dosis und Dosisfrequenz untersucht (YN, LJ, SC, SB, BN). Die Ziffer in der Patientenidentifikation gibt an, um welche Untersuchungsphase es sich handelt.

Tab. 2.3: individuelle Dosis und Dosisfrequenz der Studienteilnehmer

Dosisregime	Patienten
1 x 50 mg / kg KG:	ZS, ZM, LJ1, BN1, BN2, BN3
1 x 80 mg / kg KG:	UM, UN
2 x 40 mg / kg KG	BE
2 x 50 mg / kg KG	BH, BF, JG
2 x 90 mg / kg KG	MC
2 x 100 mg / kg KG	YN1
6 x 50 mg / kg KG	AH, YN2, LJ2
6 x 77 mg / kg KG	YN2

2.1.4 Diätetische Behandlung der Patienten

Die Patienten mit einem CBS-Mangel erhielten eine leicht eiweißreduzierte, jedoch nicht bilanzierte Vollkost. Keiner der Patienten nahm zusätzlich spezielle Methionin-freie Aminosäure-Mischungen ein. Art und Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme wurden festgehalten und bei der Auswertung berücksichtigt.

2.1.5 Vor- und Begleitmedikationen der Patienten

Die Patienten erhielten unterschiedlichste Begleitmedikamente wie zum Beispiel Vitamine, Cofaktoren, Antikoagulanzen, Antikonvulsiva. Die Einnahme von Cobalamin, Folat und Pyridoxin wurde an den Studientagen unterlassen, die Einnahme von Antikoagulanzen und Antikonvulsiva wurde unter der Berücksichtigung einer möglichen Gefährdung der Patienten fortgeführt (Tab. 2.5).

Tab. 2.4: Tägliche Begleitmedikation der Studienpatienten

I.D.	Defekt	Pyridoxin	Cobalamin	Folat	Betain
BE	CBS B6-responsiv	3 x 300 mg	-	1 x 5 mg	-
BN1	CBS B6-responsiv	3 x 300 mg	-	-	-
BN2	CBS B6-responsiv	3 x 900 mg	1000 µg/Woche	-	2 x 50 mg / kg
BN3	CBS B6-responsiv	3 x 900 mg	-	-	2 x 50 mg / kg
LJ	CBS B6-partiell-resp.	3 x 150 mg	-	-	2 x 50 mg / kg
AH	CBS B6-non-resp.	3 x 500 mg	-	2 x 5 mg	2 x 50 mg / kg
YN	CBS B6-non-resp.	3 x 100 mg	-	-	2 x 100 mg / kg
UM	MTHFR	-	500 µg / Tag	2 x 5 mg	5 x 119 mg / kg
BH	MTHFR	-	2000 µg / Tag	3 x 5 mg	3 x 50 mg / kg
BF	MTHFR	-	2000 µg / Tag	3 x 5 mg	3 x 50 mg / kg
UN	MTHFR	-	-	2 x 5 mg	3 x 80 mg / kg
LG	MTHFR	3 x 50 mg	1500 µg / Tag	3 x 5 mg	-
ZEM	MTHFR	-	-	1 x 5 mg	-
ZES	MTHFR	-	-	1 x 5 mg	-
MC	MTHFR	-	-	1 x 15 mg	2 x 90 mg /kg

2.2 Analytische Verfahren

2.2.1 Probengewinnung und –handhabung:

Nach der Anlage einer intravenösen Verweilkanüle wurde seriell 2 ml Blutproben, antikoaguliert mit 5 mM K3-EDTA, unter Verwendung von Becton-Dicinson® Vacutainern entnommen. Probenentnahmen erfolgten 0, 5, 15, 30, 45 Minuten und 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 und 24 (48) Stunden nach der primären Betain-Verabreichung. Bis zur weiteren Aufarbeitung wurden die Proben auf Eis gelagert. Die Plasma-Separation erfolgte innerhalb von 30 Minuten nach Probengewinnung durch Zentrifugation bei 7.000g für 10 Minuten bei Raumtemperatur. Der Überstand wurde danach umgehend in 1,5 ml Eppendorf Gefäßen bei –20 °C eingefroren. Nach Abschluss der Versuchsreihe erfolgte die Lagerung bei –70 °C bis zur Analyse für maximal 7 Tage. Wenn die Proben außerhalb der Universität Düsseldorf gesammelt wurde, erfolgte der Transport der gefrorenen Proben auf Trockeneis.

2.2.2 Dauer der Probensammlung

Die Probensammlung erfolgte für mindestens 12 Stunden bis maximal 52 Stunden nach erster Betain-Verabreichung. Bei einigen Patienten erfolgte nur eine verkürzte Beobachtung, da entweder keine Zustimmung für die vollständige Studienzeit vorlag oder die geplante ambulante Wiedervorstellung für die Entnahme der 24 oder 48 Stunden-Werte nicht erfolgte. Sobald die Probensammlung bis mindestens 12 Stunden nach der ersten Betain-Einnahme durchgeführt wurde, wurden die Patienten-Daten in die Entwicklung des pharmakokinetischen-pharmakodynamischen Modells mit einbezogen. Wurde die Probensammlung vor dem 12 Std Wert unterbrochen, so wurden die Patienten nur deskriptiv in die Arbeit aufgenommen.

2.2.3 Dosis & Dosisfrequenz

Für die Untersuchungen wurde das pharmazeutische Präparat Cystadane® verwendet. Jede Dosis wurde gemäß des zuvor bestimmten Körpergewichtes auf einer speziellen Analysewaage abgewogen und individuell und trocken verpackt. Betain wurde direkt vor Einnahme in circa 100 ml Mineralwasser gelöst und umgehend unter Aufsicht getrunken.

Die Höhe der verwendeten Einzeldosen betrug 50 bis 100 mg Betain / kg KG und entsprach damit den in der vorangegangenen Probandenstudie von Schwahn et al [52], sowie den in der Literatur beschriebenen Dosen. Die Tagesdosen variierten in Abhängigkeit von der Anzahl der Betain-Verabreichungen von 50 mg / kg bis 300 mg / kg. Die Applikationsfrequenz lag zwischen einer und sechs täglichen Einnahmen.

2.2.4 Zeitpunkt der Betain-Verabreichung:

Im Allgemeinen erhielten die Patienten Betain am Morgen nach einer mindestens 10-stündigen Nüchternphase. Auf die Betain-Einnahme folgte eine 4-stündige Nahrungskarenz, wobei das Trinken von Mineralwasser bereits 2 Stunden nach der Erst-Medikation erlaubt war. Die Medikamenteneinnahme wurde durch medizinisches Personal überwacht. Zwei erwachsenen und als zuverlässig bezüglich der Medikamenteneinnahme erachteten Patienten wurde es erlaubt, die Klinik über Nacht zu verlassen und sich am folgenden Morgen zur Fortführung der Studie erneut ambulant vorzustellen.

2.2.5 Chemikalien und Reagenzien

Die Puffer- und Reagenzlösungen für die Aminosäureanalyse wurden als Fertigprodukt von der Firma Eppendorf bezogen. Betain wasserfrei und 18-Crown-6 wurden von Sigma Chemie (Deisenhofen) bezogen. Dimethylglycin von Fluka und p-Bromophenacyl von Pierce. Alle anderen Reagenzien und Lösungen waren ebenfalls höchster analytischer Güteklasse und wurden von Merck (Darmstadt) oder Sigma Chemie bezogen.

2.2.6 Konzentrationsbestimmung des Gesamt-Homocysteins im Plasma

Die quantitative Bestimmung des Gesamt-Homocysteins (tHcy) im Plasma erfolgte mittels Imx Homocysteine, einem Enzymimmunoassay (FPIA-Assays) [53] und wurde durch das Zentrallabor der Heinrich-Heine-Universität durchgeführt. Alle Homocystein-Formen (Homocystin, gemischtes Disulphid und protein-gebundene Formen) im Blut werden durch Dithiothreitol (DTT) zum freien Homocystein reduziert und in einem getrennten Reaktionsschritt enzymatisch durch das Enzym SAH Hydrolase in Gegenwart eines Überschusses an Adenosin zu S-Adenosyl-L-Homocystein umgewandelt. Nach Zugabe des Anti-SAH Antikörpers und des Fluoreszeintracer S-Adenosyl-Cystein wird die Menge des Gesamt-Homocystein mittels FPIA gemessen. Dabei konkurrieren SAH und der markierte Tracer um die Bindungsstellen am monoklonalen Antikörper. Die Reduktion und enzymatische Umwandlung erfolgten dabei vollautomatisch.

2.2.7 Konzentrationsbestimmung der Aminosäuren im Plasma

Die quantitative Aminosäurebestimmung erfolgte auf einem automatischen Aminosäureanalysator (LC3000 Amino Acid Analysator, Eppendorf-Biotronik, München, Deutschland), unter der Verwendung der Ninhydrinmethode nach Stein und Moore [54]. Auf die Aminosäuren Methionin, Sarcosin, Glycin, Serin wurde das Hauptmerk gerichtet.

Für die Proteinfällung wurden nach dem Auftauen und der erneuter Mischung zu 200 µl Probe 50 µl 10% Sulfosalicylsäure hinzugegeben. Nach Proteinfällung erfolgte eine erneute Vermischung gefolgt von einer 30 minütigen Kühlung bei -4°C. Die Proben wurden daraufhin erneut gemischt und bei 1000*g für 10 Minuten zentrifugiert. 100 µl des Überstandes wurde entnommen und mit 100µl des Derivatisierungsmittels/Puffers vermischt. Diese 200 µl wurden direkt auf dem Aminosäure Analysator eingespritzt.

2.2.8 Konzentrationsbestimmung von Betain und DMG im Plasma

Die Bestimmung der Konzentration von Betain und seines direkten Metaboliten DMG erfolgten nach der 1998 von Laryea et al. publizierten und seitdem weiterentwickelten HPLC-Methode [37].

Plasma- und Urinproben wurden primär unverdünnt verwendet. Urinproben wurden in einer Kontrollmessung bis zu 10 fach verdünnt, sobald sie große Mengen an Betain und DMG enthielten. Die Proteinfällung erfolgte durch Zugabe von 50 µl einer 100 mmol/l Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung (KH₂PO₄) zu 50 µl Probe oder Kalibrationslösung. Nach der Mischung wurden der Lösung 900 µl der Derivatisierungslösung zugegeben. Für die Derivatisierung wurde eine Lösung von 66 mg (2.5 mmol) 18-Crown-6 und 1390 mg (50 mmol) 4-Bromophenacyl Bromid in 100 ml Acetonitril verwendet. Die Behälter wurden verschlossen und nach erneuter Mischung bei 80 ° C für 60 Minuten erhitzt. Nach der Abkühlung der Proben bei -4°C für 5 Min wurden sie bei Erreichen von Raumtemperatur erneut gemischt und bei 1000 g für 7 Minuten zentrifugiert. 20 µl des Überstandes, der die Phenacyl-Ester von DMG und Betain enthielt, wurden direkt in den HPLC injiziert. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte durch Vergleich mit der wässrigen Lösung bekannter DMG- und Betain-Konzentration.

Für die Messung wurde ein isokratisches Umkehrphasen Waters HPLC System mit einer Quarzsand gebundene Umkehrphasen-Säule (Supelconsil™ LC-SCX, 5 µm, 25 cm x 4.6 cm Supelco Inc.) verwendet. Die Probenausflucht erfolgte isokratisch über 20 Minuten. Die mobile Phase enthielt 22 mmol/l Cholin gelöst in 900 ml/l Acetonitril und 100 ml/l Wasser. Die mobile Phase wurde vor ihrer Verwendung für 30 Minuten in einem UV-Bad entgast. Als Probengeber wurde ein Alliance Waters 2690 Separation Module verwendet. Die Flussrate betrug 1,5 ml/Minute. Die Retentionszeiten lag für DMG in der Regel bei 12,7 min und für Betain bei durchschnittlich 14,8 min. Ein Alliance Waters 2487 Dual λ Absorbance Detektor mit Photodiode überwachte die Analyse bei 254 nm. Alle Chromatographien wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Datenauswertung erfolgte mittels Millenium® von Waters®.

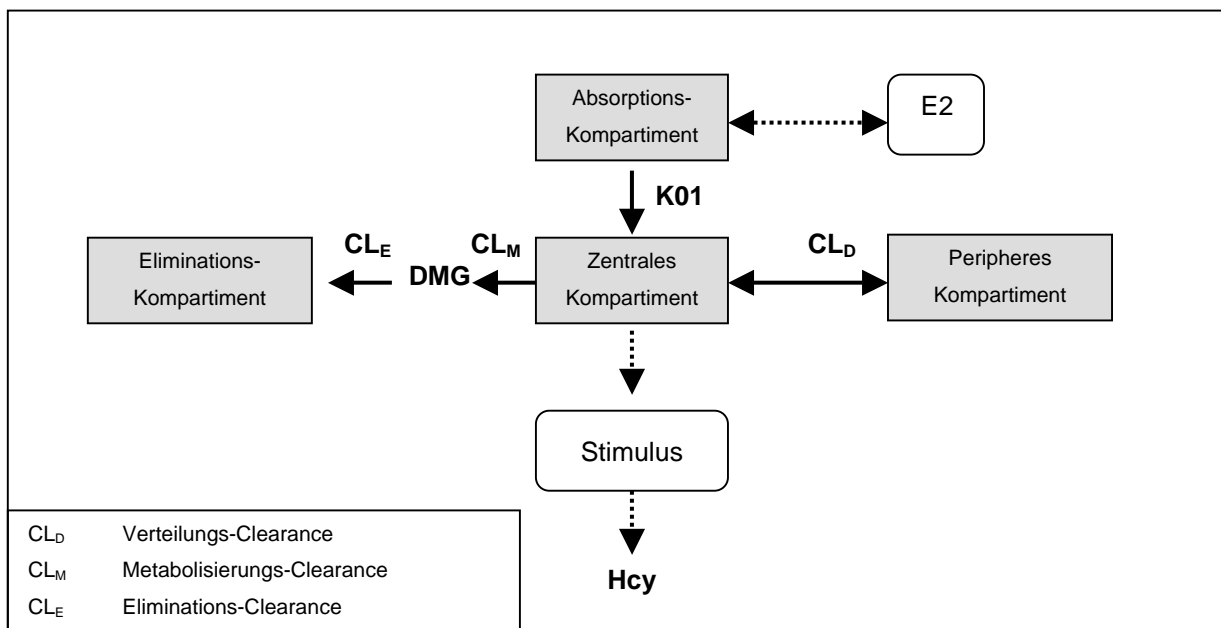
2.3 Statistik

Für die statistische Analyse wurden ausschließlich nicht-parametrische Verfahren verwendet (Mann-Whitney-U-Test, Kruskal-Wallis-M-Test). Die Ergebnisse werden als Median \pm SEM ausgedrückt. Das Signifikanzniveau wurde mit $P < 0,05$ festgelegt. Hochsignifikante Zusammenhänge ($P < 0,001$) werden besonders gekennzeichnet. Die Evaluationen wurden mittels MS-Excel-2000 und SPSS 12.0 durchgeführt.

2.4 Pharmakokinetisches-pharmakodynamisches Modell

In Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Math. Dr. Dieter Hafner des Institutes für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf erfolgte die Entwicklung eines Zwei-Kompartiment-Modells für Betain mit Metabolisierungsprozess für DMG. Methionin musste als Variable entfernt werden, da die große Anzahl an Variablen die Stabilität des Modells störten. Es wurde ein so genanntes „indirect response“ Modell hinzugefügt, welches die theoretische Hcy-senkende Wirkung von Betain darstellt. Die Konzentrations-Zeit Daten wurden für jeden Patienten einzeln in das Programm Win-Nonlin 3.1, Pharsight, USA eingegeben. Das Profil wurde mittels verschiedener Modelle mit variierender Komplexität beschrieben, inklusiv mono- und diexponentieller Funktion. Die nachfolgenden Simulationen erfolgten mit ModelMaker 3.0, Chervell Scientific, USA.

Abb. 2.1: Zwei-Kompartiment-Modell für Betain, Metabolisierungsprozess für DMG, inklusiv „indirect response“ Modell



K₀₁ ist die Absorptionskonstante für die Verteilung von Betain aus dem Absorptions- in das zentrale Kompartiment. Das *Absorptions-Kompartiment* beschreibt die Konzentration von Betain im Gastrointestinaltrakt nach oraler Aufnahme und vor Absorption. Das *zentrale Kompartiment* entspricht der im Plasma gemessenen Betain-Konzentration. Das *periphere Kompartiment* stellt die Gesamtheit der Körperzellen dar, die in einem kontinuierlichen Austausch von Betain mit dem Intravasalraum stehen. Da die intrazellulären Konzentrationen nicht erfasst wurden, muss auf die intravasale Plasma-Konzentration zurückgegriffen werden. **CL_D** beschreibt die *Verteilungs- /Distributions-Clearance* von Betain zwischen dem zentralen und peripheren Kompartiment, **CL_M** die Metabolisierung von Betain in seinen direkten Metaboliten Dimethylglycin, katalysiert durch das Enzym Betain-Homocystein-Methyltransferase, und **CL_E** die Elimination von **DMG**. Es werden drei Verteilungsvolumina unterschieden. Das *Verteilungsvolumen* des zentralen (**V1**), das Verteilungsvolumen des peripheren (**V2**) und das Verteilungsvolumen des DMG-Kompartiments (**V3**). E2 ist der Trigger für multiple Dosierungen (nicht periodisch).

Das Maß für die mittlere relative Abweichung zwischen beobachteten (obs) und theoretischen (mod) Werten lag zwischen 1,3 – 6,9 % ($3,02 \pm 0,02$ %) wurde wie folgt berechnet:

$$relSSQ = \frac{1}{n} \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{i_{obs}} - y_{i_{mod}})^2}{y_{i_{obs}}}}$$

„Indirect-Response-Model“

Zusätzlich wurde das Modell um die dynamische Funktion von Homocystein erweitert. Die Stimulus-Funktion (S) beschreibt das indirekte E_{max} Modell für die Homocystein-senkende Wirkung von Betain. Der Abbau von tHcy wird mittels S moduliert:

$$\frac{dHcy}{dt} = K_{in} - K_{out} * S * Hcy(t)$$

K_{in} ist die Konstante der tHcy-Produktion (0. Ordnung), K_{out} die Konstante des tHcy-Abfalls (1. Ordnung). Hcy (t) gibt die Hcy-Konzentration zum gegebenen Zeitpunkt an. S beschreibt die Stimulationsfunktion von Betain, die den Abbau von tHcy moduliert:

$$S = 1 + \frac{E_{max} * Betain(t)}{EC50 + Betain(t)}$$

Dabei beschreibt E_{MAX} den maximalen Betain-Effekt und EC₅₀, die Betain-Konzentration, die einen halbmaximalen Effekt auslöst. Betain (t) gibt die Betain-Plasma-Konzentration zum gegebenen Zeitpunkt an. R₀ basales Ansprechniveau bei fehlender Medikamenteneinnahme und es gilt der Zusammenhang R₀ = K_{in}/k_{out}.

Zusätzliche pharmakokinetische und pharmakodynamische Parameter sind im Anhang unter Abkürzungen aufgeführt und erklärt.

3 ERGEBNISSE

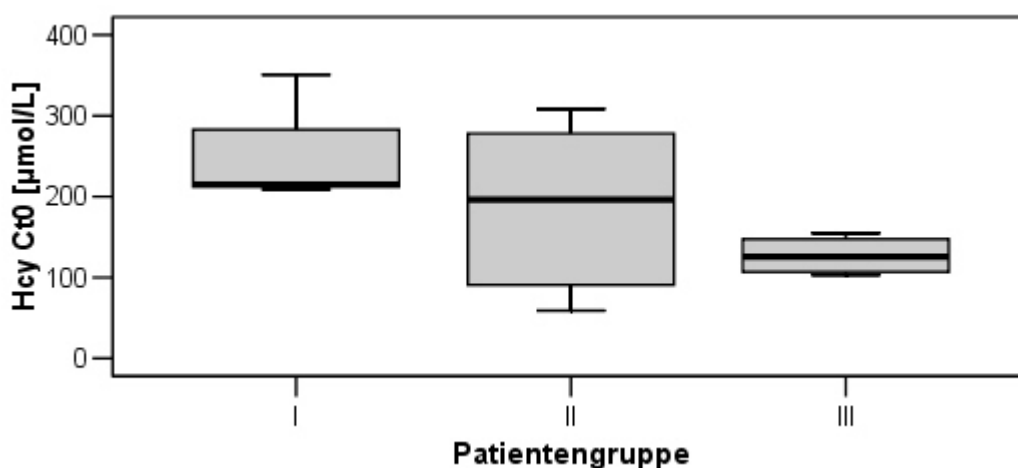
3.1 Plasma-Metabolitenprofil zum Zeitpunkt t_0

Die Charakterisierung des Metabolitenprofils der verschiedenen Enzymdefekte erfolgte anhand der Messung der Konzentrationen der Metabolite Betain, DMG, tHcy sowie der Aminosäuren Methionin, Serin, Glycin und Sarcosin vor und unter Betain-Belastung. Mit den erhobenen Roh-Daten wurden die folgenden, ausschließlich nicht-parametrischen Analysen durchgeführt. Die Ergebnisse werden, falls nicht anders angemerkt, als Median (1.– 3. Quartil), und Wertebereich angegeben.

3.1.1 Gesamt-Homocystein-Konzentration zum Zeitpunkt t_0

Die tHcy-Plasma-Konzentrationen unterscheiden sich in den verschiedenen Behandlungsgruppen. Die initiale mediane tHcy-Konzentration beträgt in der Patientengruppe I 209,2 $\mu\text{mol/L}$ (71,5 – 215,0 $\mu\text{mol/L}$), in der Gruppe II 196,6 $\mu\text{mol/L}$ (106,0 – 269,1 $\mu\text{mol/L}$) und in der Gruppe III 106,9 $\mu\text{mol/L}$ (36,2 – 132,8 $\mu\text{mol/L}$) (Tab. 3.1). Die Unterschiede sind nicht statistisch signifikant. Der Unterschied erreicht statistische Signifikanz, wenn die Pyridoxin-responsiven Patienten in allen Patientengruppen unberücksichtigt bleiben. Dann zeigt tHcy Ct_0 eine deutliche fallende Tendenz von Gruppe I zu Gruppe III, wobei der Unterschied zwischen Gruppe I und III mit $P = 0,034$ signifikant ist. (Tab. 3.1 und 3.2, Abb. 3.1)

Abb. 3.1: tHcy Ct_0 in den Patientengruppen I-III ohne Berücksichtigung der Pyridoxin-responsiven Patienten



Tab. 3.1: Initiale Plasma-Konzentrationen der Patientengruppen I-III

[$\mu\text{mol/L}$]	Gruppe I N = 5	Gruppe II N = 6	Gruppe III N = 6
Betain Ct_0	19,2 (12,0 - 20,1)	17,5 (12,1 - 36,1)	510,3 (315,0 - 584,3)
DMG Ct_0	2,6 (0,6 - 4,3)	7,2 (5,5-10,4)	108,8 (98,7 - 136,2)
Sarcosin Ct_0	5,0 (5,0-7,2)	5,0 (5,0-9,6)	42,5 (33,1-42,8)
tHcy Ct_0	209,2 (71,5 - 215,0)	196,6 (106,0 - 269,1)	106,9 (36,2 - 132,8)
Serin Ct_0	113,0 (93,2-126,8)	123,7 (119,7-155,2)	130,8 (127,0-154,8)

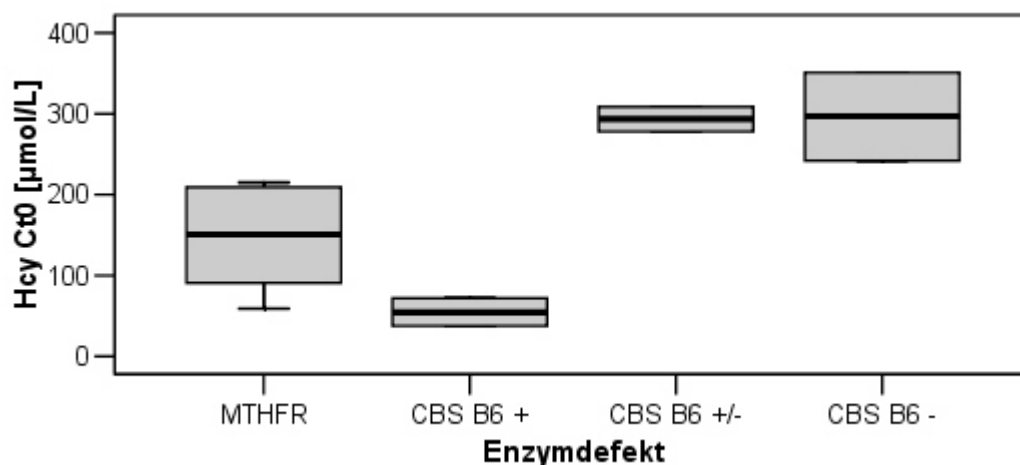
Tab. 3.2: Initiale Plasma-Konzentrationen der Patientengruppen I-III ohne Berücksichtigung der Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten

[$\mu\text{mol/L}$]	Gruppe I N = 3	Gruppe II N = 6	Gruppe III N = 4
Betain Ct_0	12,0 (8,1-16,0)	17,5 (12,1 - 36,1)	567,6 (463,1-606,3)
DMG Ct_0	0,6 (0,4 - 10,3)	7,2 (5,5-10,4)	42,5 (33,1-42,8)
Sarcosin Ct_0	5,0 (5,0-7,2)	5,0 (5,0-9,6)	42,5 (33,1-42,8)
tHcy Ct_0	215,0 (212,1-283,0)	196,6 (106,0 - 269,1)	125,4 (108,8-143,9)
Serin Ct_0	126,8 (106,7-130,4)	123,7 (119,7-155,2)	178,8 (178,8-178,8)

Die tHcy-Plasma-Konzentrationen sind abhängig von dem zugrunde liegenden Enzymdefekt.

Bei der folgenden Untersuchung bleiben die Patienten der Behandlungsgruppe III unberücksichtigt, mit dem Ziel, den Einfluss des Hcy-senkenden Effektes auszuschließen. Die einzelnen Enzymdefekte unterscheiden sich signifikant bezüglich der Höhe der initialen tHcy-Konzentration ($P = 0,046$). Patienten mit einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel weisen die niedrigsten tHcy Ct_0 -Werte auf (54,8 $\mu\text{mol/L}$, 46,3 - 63,4 $\mu\text{mol/L}$), gefolgt von den Patienten mit MTHFR-Mangel (151,1 $\mu\text{mol/L}$, 90,9 - 209,2 $\mu\text{mol/L}$). Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel zeigen die höchsten tHcy Ct_0 Werte (293,4 $\mu\text{mol/L}$, 269,1 - 319,3 $\mu\text{mol/L}$) (Tab. 3.3 und Abb. 3.2).

Abb. 3.2: Einfluss des Enzymdefektes auf tHcy Ct_0 ohne Berücksichtigung der Gruppe III-Patienten



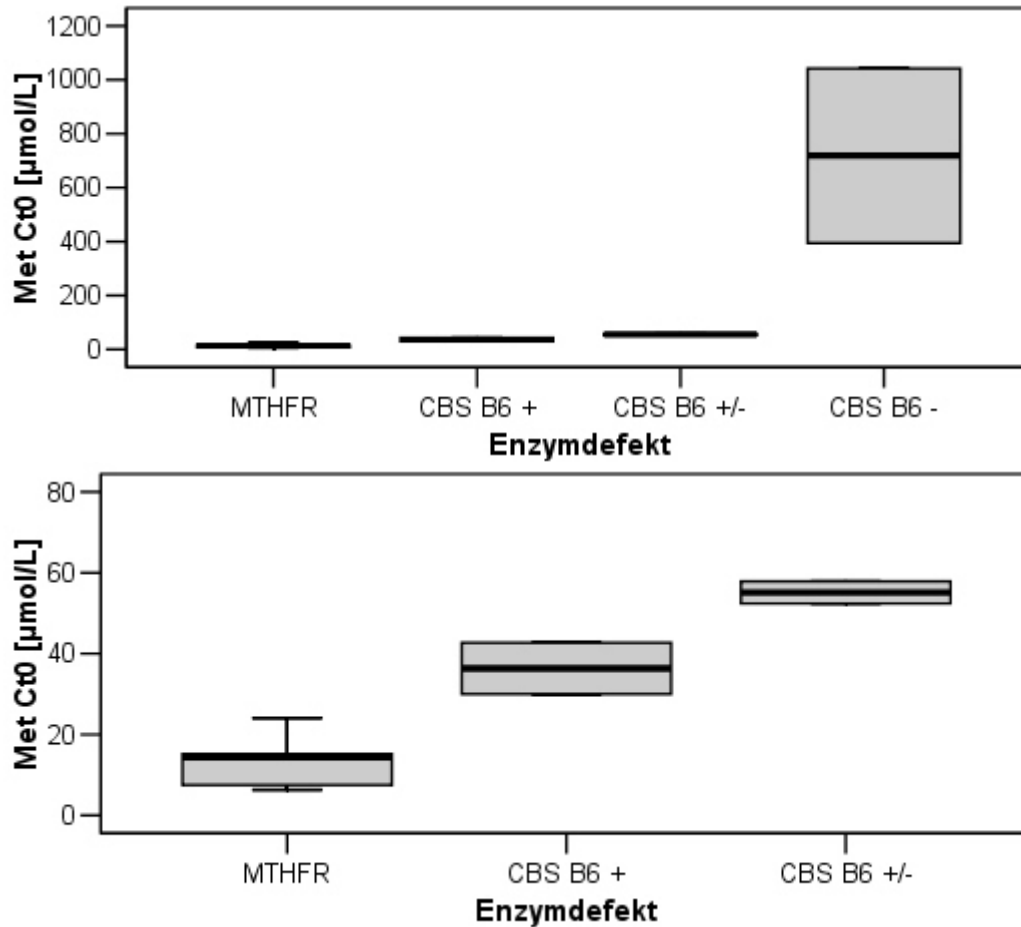
Tab. 3.3: Zusammenhang zwischen Enzymdefekt und initialem Metabolitenprofil der Gruppen I und II

[µmol/L]	MTHFR	CBS	CBS	CBS	CBS
	N = 5	B6-responsiv N = 2	B6-non-responsiv N = 4	B6-partiell-responsiv N = 2	B6-non-responsiv N = 2
Betain Ct ₀	16,0 12,0-41,8	21,7 20,5-23,0	14,9 10,8-19,3	10,8 10,8-10,8	19,5 19,3-19,8
DMG Ct ₀	5,5 0,6-5,5	3,5 3,0-3,9	15,5 8,4-30,6	5,9 3,4-8,4	41,2 30,6-51,7
Sarcosin Ct ₀	5,0 5,0-5,0	5,0 5,0-5,0	10,2 8,2-11,2	11,4 11,2-11,5	7,2 6,1-8,2
tHcy Ct ₀	151,1 90,9-209,2	54,8 46,3-63,4	293,4 269,1-319,3	293,4 285,8-301,1	296,5 269,2-323,7
Serin Ct ₀	149,3 128,6-173,8	103,1 98,2-108,1	117,3 107,2-122,1	117,3 115,7-118,9	106,8 96,7-116,8
Methionin Ct ₀	14,3 7,5-15,2	36,4 33,2-39,5	718,1 56,5-556,2	55,2 53,8-56,5	718,1 556,2-880,1

3.1.2 Methionin-Konzentration zum Zeitpunkt t₀

Die Methionin-Plasma-Konzentration steigt von Gruppe I zu Gruppe III an. Die Methionin-Werte innerhalb der MTHFR-Patienten zeigen eine steigende Tendenz von Gruppe I zu Gruppe III. Gruppe I weist mit 6,9 µmol/L (6,6-7,2 µmol/L) die niedrigste initiale Methionin-Konzentration auf, gefolgt von Gruppe II mit 15,2 µmol/L (14,8–19,7 µmol/L) und Gruppe III mit 17,5 µmol/L (14,3–20,8 µmol/L). In der Gruppe der CBS-Patienten zeigen sich derart große Unterschiede der Methionin-Konzentrationen, dass eine Aussage nicht zulässig ist.

Die Höhe der Methionin-Plasma-Konzentration ist abhängig von dem zugrunde liegenden Enzymdefekt (P = 0,001). Patienten mit einem CBS-Mangel weisen hohe bis sehr hohe Methionin-Plasma-Konzentrationen zum Zeitpunkt t₀ auf. Dabei ist die initiale Methionin-Konzentration in Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten mit 34,6 µmol/L (35,1–45,3 µmol/L) deutlich niedriger als in Pyridoxin-non-responsiven Patienten, bei denen sie 718,1 µmol/L (556,2–880,1 µmol/L) beträgt. Jedoch fällt auf, dass die Patientin mit vorbeschriebener partieller Pyridoxin-Responsivität mit 55,2 µmol/L signifikant niedrigere Methionin Ct₀-Werte zeigt als Pyridoxin-non-responsiven Patienten. Patienten mit einem Remethylierungsdefekt haben erwartungsgemäß subnormale Methionin-Konzentrationen im Plasma (14,3 µmol/L, 7,5–15,2 µmol/L) (Tab. 3.3 und Abb. 3.3).

Abb. 3.3: Einfluss der Enzymdefekte auf Methionin Ct₀ der Patientengruppe I – III

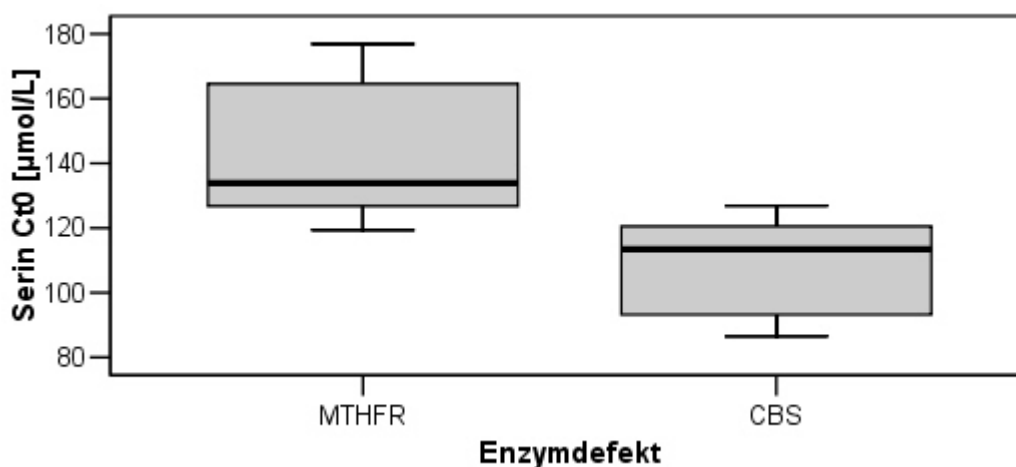
3.1.3 Serin-Konzentration zum Zeitpunkt t₀

Die Serin-Plasma-Konzentration ist abhängig von dem zu grunde liegenden Enzymdefekt und steigt unter Betain-Einnahme an. Aufgrund des erhöhten Verbrauchs von Serin unter gesteigerter Remethylierung und dem sich daraus ergebenden Zusammenhang zwischen der Serin-Plasma-Konzentration und Enzymdefekt ist eine Gruppenbildung ohne Berücksichtigung des Defektes nicht sinnvoll. Patienten mit einem Remethylierungsdefekt (149,3 µmol/L, 128,6-173,8 µmol/L) weisen in allen Behandlungsgruppen signifikant höhere initiale Serin-Plasma-Konzentrationen auf als Patienten mit einem CBS-Mangel (117,3 µmol/L, 107,3-122,1 µmol/L), unabhängig davon, ob die Gruppe III-Patienten berücksichtigt werden oder nicht ($P = 0,046$). Darüber hinaus zeigt sich ein Anstieg der Serin-Konzentration von Gruppe I zu Gruppe III sowohl innerhalb der Gruppe der MTHFR- als auch der CBS-Patienten (Tab. 3.4).

Tab. 3.4 : Interaktion von Enzymdefekt und Behandlungsgruppe auf Serin Ct₀

[µmol/L]	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
MTHFR	N=2 130,4 128,6-132,2	N=3 164,6 142,0-170,8	N=1 178,8 178,8-178,8
CBS	N=3 93,2 89,9-103,1	N=3 120,5 117,3-123,7	N=2 127,0 125,1-128,9

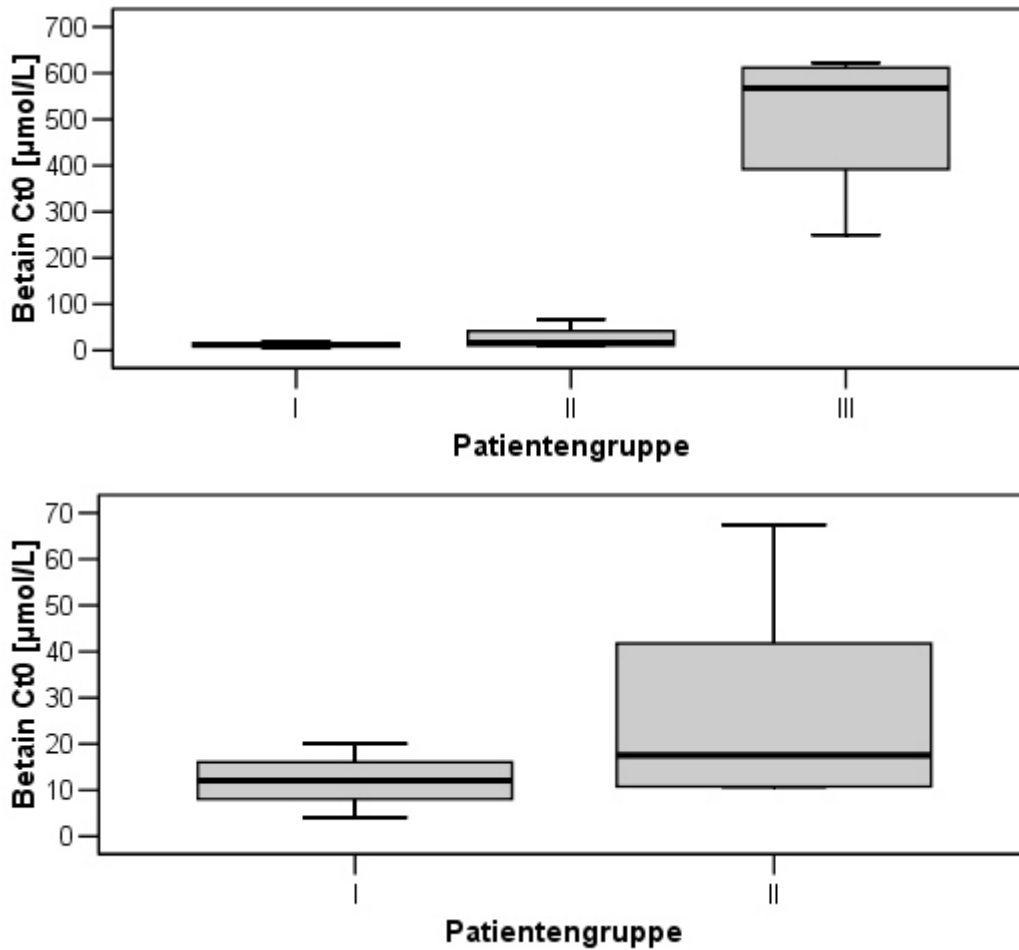
Abb. 3.4: Einfluss des Enzymdefektes auf Serin Ct₀ der Patientengruppen I und II



3.1.4 Betain-Konzentration zum Zeitpunkt t₀

Die Behandlungsgruppen unterscheiden sich signifikant bezüglich der Betain-Plasma-Konzentrationen (P = 0,004). In den Patientengruppen I und II sind die medianen Betain-Konzentrationen mit 19,2 µmol/L (12,0-20,1 µmol/L) bzw. 17,5 µmol/L (12,1-36,1 µmol/L) signifikant tiefer als in der Gruppe III mit 510, µmol/L (315,0-584,3 µmol/L) (P = 0,006, bzw. 0,004). Dabei ist die Höhe des Betain-Plasma-Konzentration der Patientengruppe III stark abhängig vom zeitlichen Abstand der Probenentnahme zu der Betain-Einnahme. Bleiben die Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten unberücksichtigt, beträgt Betain Ct₀ in Gruppe I nur 12,0 µmol/L (8,1-16,0 µmol/L) und ist damit signifikant niedriger als in Gruppe II (Tab. 3.1 und 3.2, Abb. 3.5).

Abb. 3.5: Initiale Betain-Konzentrationen der Patientengruppen I-III ohne Berücksichtigung der Pyridoxin-responsiven Patienten

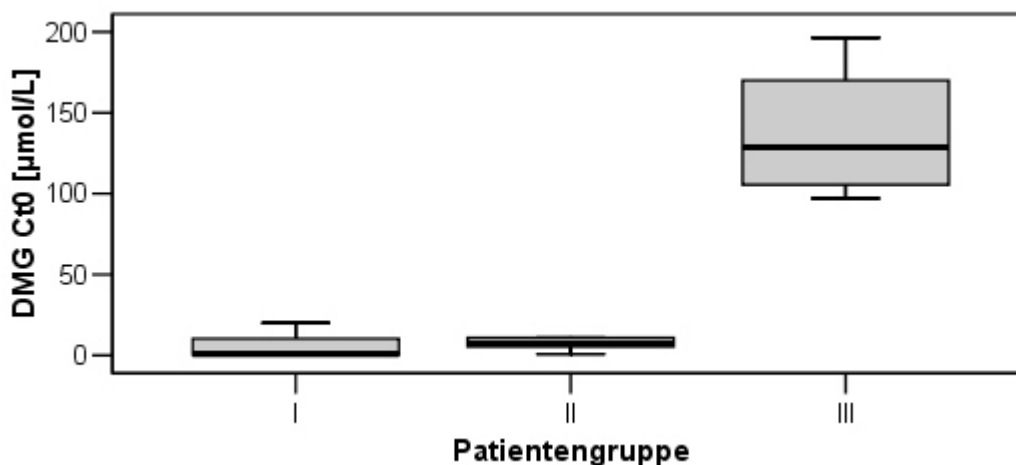


Die Art des Enzymdefektes hat keinen gesicherten Einfluss auf die Betain-Plasma-Konzentration. Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangel weisen die niedrigsten Betain-Werte auf (14,9 µmol/L, 10,8-19,3 µmol/L), gefolgt von den Patienten mit einem MTHFR-Mangel (16,0 µmol/L, 12,0-41,8 µmol/L) und einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel (21,7 µmol/L, 20,5-23,0 µmol/L). Jedoch zeigt sich, dass die Patientin mit der partiellen Pyridoxin-Responsivität einen signifikant niedrigeren initialen Betain-Spiegel (10,8 µmol/L) aufweist als die restlichen Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel (19,5 µmol/L). Alle anderen Unterschiede erreichen keine statistische Signifikanz. Aufgrund der zeitlichen Abhängigkeit der initialen Betain-Konzentration von dem Zeitpunkt der Betain-Verabreichung werden die Patienten der Gruppe III nicht berücksichtigt (Tab. 3.3).

3.1.5 DMG-Konzentration zum Zeitpunkt t_0

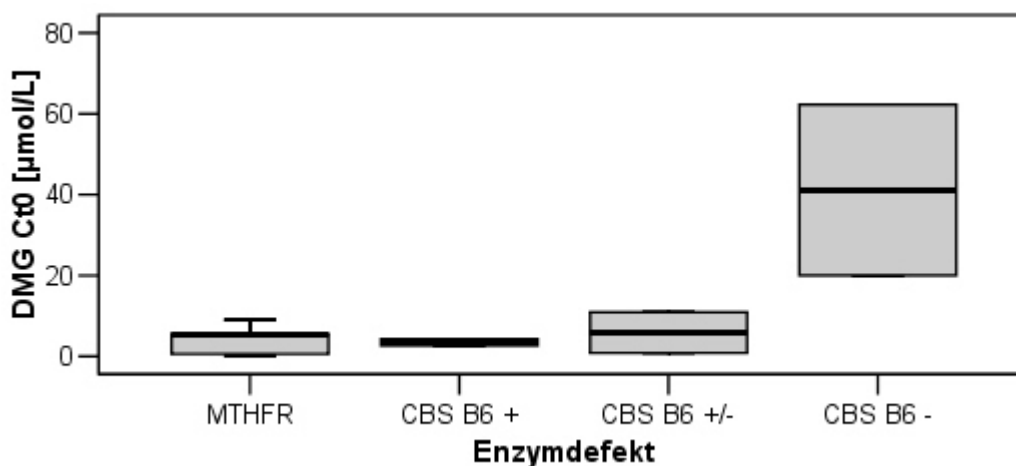
Die Behandlungsgruppen unterscheiden sich signifikant bezüglich der Höhe der initialen DMG-Konzentration ($P = 0,003$). DMG Ct_0 in Gruppe I (2,6 $\mu\text{mol/L}$, 0,6-4,3 $\mu\text{mol/L}$) ist geringfügig niedriger als in Gruppe II (7,3 $\mu\text{mol/L}$, 5,5-10,4 $\mu\text{mol/L}$) und beide sind signifikant niedriger als in Gruppe III (108,8 $\mu\text{mol/L}$, 98,7-136,2 $\mu\text{mol/L}$) ($P = 0,006$, bzw. 0,006) (Abb. 3.6).

Abb. 3.6: Initiale DMG-Plasma-Konzentrationen den Behandlungsgruppen I-III



Die DMG-Plasma-Konzentration wird beeinflusst durch den zugrunde liegenden Enzymdefekt. Patienten mit einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel weisen die niedrigsten initialen DMG-Konzentrationen auf (3,5 $\mu\text{mol/L}$, 3,0-3,9 $\mu\text{mol/L}$), gefolgt von den Patienten mit MTHFR-Mangel (5,5 $\mu\text{mol/L}$, 0,6-5,5 $\mu\text{mol/L}$) und von denen mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel (15,5 $\mu\text{mol/L}$). Jedoch fällt auf, dass die Patientin mit der partiellen Pyridoxin-Responsivität deutlich niedrigere DMG Ct_0 (5,9 $\mu\text{mol/L}$, 3,4-8,4 $\mu\text{mol/L}$) aufweist als die Pyridoxin-non-responsiven CBS-Patienten (41,2 $\mu\text{mol/L}$, 30,5-51,5 $\mu\text{mol/L}$). Aufgrund des signifikanten höheren DMG Ct_0 in der Gruppe III werden bei der Auswertung nur die Daten der Gruppe I und II berücksichtigt (Tab. 3.3 und Abb. 3.7).

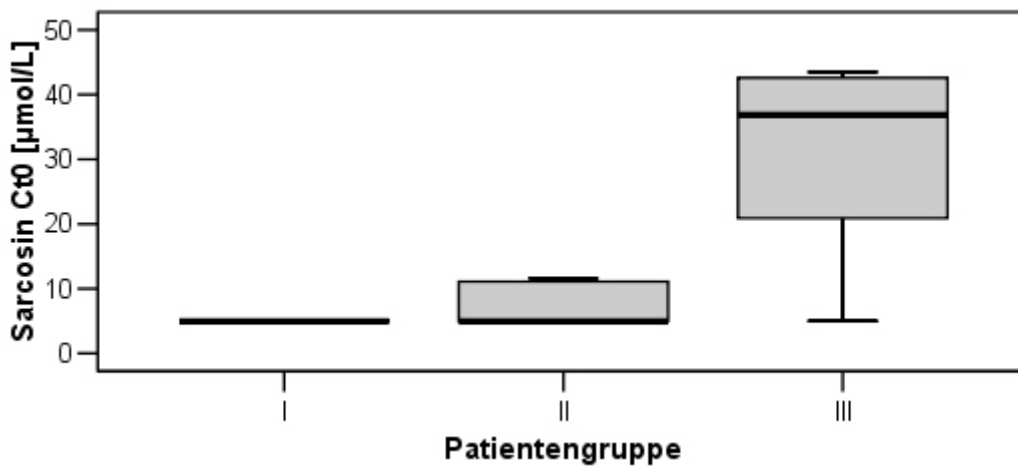
Abb. 3.7: Einfluss des Enzymdefektes auf die initiale DMG-Plasma-Konzentration



3.1.6 Sarcosin-Konzentration zum Zeitpunkt t_0

Die Behandlungsgruppen unterscheiden sich signifikant bezüglich der initialen Sarcosin-Plasma-Konzentration. Die Nachweisgrenze für Sarcosin im Plasma liegt bei kleiner gleich $5 \mu\text{mol/L}$, so dass alle Werte unterhalb dieser Grenze mit dem Wert $5,0 \mu\text{mol/L}$ angegeben werden. Die mediane initiale Sarcosin-Konzentration beträgt in der Gruppe I $< 5,0 \mu\text{mol/L}$, in der Gruppe II $< 5,0 \mu\text{mol/L}$ und in der Behandlungsgruppe III $42,4 \mu\text{mol/L}$ ($31,4\text{-}43,5 \mu\text{mol/L}$). Gruppe I und II unterscheiden sich somit nicht bezüglich Sarcosin Ct_0 , wohingegen Sarcosin Ct_0 in Gruppe III signifikant höhere ist als in den beide erst genannte Gruppen ($P = 0,032$, bzw. $0,020$) (Tab. 3.1, 3.2 und Abb. 3.8).

Abb. 3.8: Initiale Sarcosin-Plasma-Konzentration der Behandlungsgruppen I-III



Die initiale Sarcosin-Plasma-Konzentration wird beeinflusst durch den zugrunde liegenden Enzymdefekt. Sarcosin Ct_0 liegt sowohl in MTHFR- als auch in Patienten mit einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel, d.h. den Patienten mit niedrigen SAM-Konzentrationen, unterhalb der Nachweisgrenze ($5,0 \mu\text{mol/L}$), während Sarcosin Ct_0 in Pyridoxin-non-responsiven Patienten deutlich höher ist ($10,2 \mu\text{mol/L}$, $3,2\text{-}11,2 \mu\text{mol/L}$) ($P = 0,181$). Dabei bleiben die Patienten der Behandlungsgruppe III unberücksichtigt. Der Einfluss des Methionin-Spiegels auf die Sarcosin-Konzentration zeigt sich auch darin, dass Sarcosin in der Patientin mit partiell Pyridoxin-responsivem CBS Mangel ($11,4 \mu\text{mol/L}$) gering höher ist als in Patienten mit fehlender Pyridoxin-Responsivität ($7,2 \mu\text{mol/L}$) (Tab. 3.3).

3.1.7 Interaktion zwischen den Metaboliten des Methylgruppen-Stoffwechsels

Betain Ct₀ zeigt eine signifikante positive Korrelation mit DMG Ct₀ und Sarcosin Ct₀. Auch Methionin Ct₀ korreliert signifikant positiv mit DMG Ct₀ und Sarcosin Ct₀. Beide letztgenannten korrelieren ebenfalls signifikant positiv miteinander. Betain Ct₀ korreliert signifikant negativ mit tHcy Ct₀. Methionin Ct₀ und Serin Ct₀ korrelieren negativ miteinander (Tab. 3.5).

Tab. 3.5 : Korrelationsmatrix der relevanten Metabolite und der kinetischen Parameter. Dargestellt werden ausschließlich signifikante Ergebnisse (obere Zeile r, untere Zeile P).

	Betain Ct ₀ [μmol/L]	DMG Ct ₀ [μmol/L]	MMG Ct ₀ [μmol/L]	tHcy Ct ₀ [μmol/L]	Met Ct ₀ [μmol/L]	Serin Ct ₀ [μmol/L]
Betain Ct ₀ [μmol/L]	1,00	0,80 0,000	0,51 0,037	-0,57 0,006		
DMG Ct ₀ [μmol/L]	0,80 0,000	1,00	0,67 0,003		0,50 0,046	
MMG Ct ₀ [μmol/L]	0,51 0,037	0,67 0,003	1,00		0,54 0,027	
tHcy Ct ₀ [μmol/L]	-0,57 0,006			1,00		
Met Ct ₀ [μmol/L]		0,50 0,046	0,54 0,027		1,00	-0,49 0,078
Serin Ct ₀ [μmol/L]					-0,49 0,078	1,00

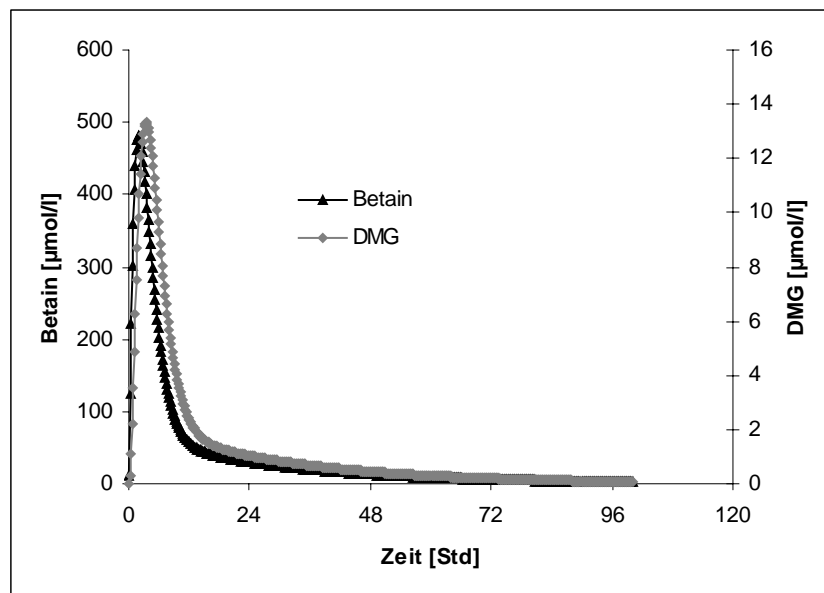
3.2 Pharmakokinetische Analyse der Roh- und Modelldaten

3.2.1 Absorption

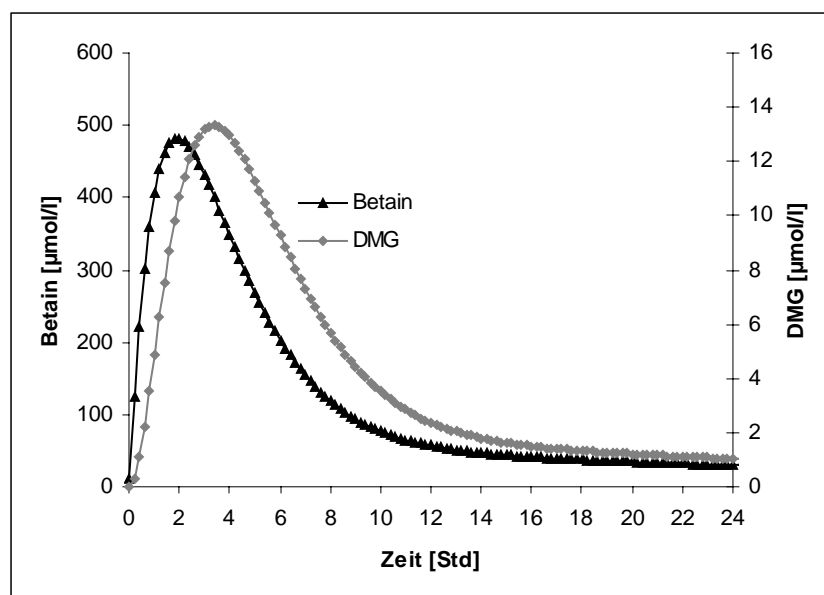
Das Konzentration-Zeit-Profil von Betain im Plasma wird am besten durch ein Zwei-Kompartiment-Modell mit Absorption erster Ordnung und einer Verzögerungszeit (T_{lag}) beschrieben. Ein repräsentatives Konzentrations-Zeit-Profil wird in Abbildung 3.9 gezeigt. Pharmakokinetische Parameter von klinischem Interesse sind in Tabelle 3.7 aufgeführt.

Abb. 3.9: Repräsentativer Konzentration-Zeit-Verlauf (Gruppe I, Patient ZM, MTHFR) nach Einnahme von 50 mg Betain / kg KG, a) über 100 Stunden und b) über 24 Stunden

a)



b)



Nach oraler Einnahme von 50 mg / kg Betain steigt in der Patientengruppe I nach 0,20 Stunden (Tlag) die Betain-Konzentration im Plasma an und erreicht nach 0,92 Stunden (Betain t_{max}) einen Spitzenspiegel (Betain C_{max}) von 486,23 $\mu\text{mol/L}$. DMG steigt verzögert an und erreicht nach 3,0 Stunden (DMG t_{max}) eine Spitzenkonzentration von 24,1 $\mu\text{mol/L}$ (DMG C_{max}) im Plasma (Abb. 3.9).

Die für Dosis und Dosisfrequenz nicht korrigierte Analyse der Absorption in den drei Patientengruppen zeigt einen Anstieg von Betain C_{max} von Gruppe I zu Gruppe III. Unter wiederholter Verabreichung akkumuliert Betain im Plasma. Betain C_{max} in Gruppe III ist signifikant höher als in Gruppe I ($P = 0,006$) und II ($P = 0,016$). Entsprechend verhält sich DMG ($P = 0,054$). DMG steigt unter Steady-state Bedingungen um 320% des Wertes der Gruppe I, wohingegen sich zwischen Gruppe I und II kein Unterschied zeigt. Während sich kein signifikanter Unterschied bezüglich Betain t_{max} zeigt, wird die DMG-Spitzenkonzentration im Plasma in Gruppe II (6,1 Std) und III (5,9 Std) später erreicht als in Gruppe I (3,4 Std) (Tab. 3.6).

Tab. 3.6: Absorptionsparameter in den Gruppen I-III, nicht korrigiert für Dosis und Dosisfrequenz

		Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gesamt
		N=5	N=6	N=5	N=16
Betain	C_{max} Modell	480,0	790,2	1403,3	790,1
		(412,5-492,4)	(622,2-1036,2)	(1228,1-1542,3)	(520,2-1134,6)
	C_{max} Rohdaten	535,7	926,6	1708,5	926,6
		(506,1-555,8)	(637,7-1066,3)	(1706,2-1754,4)	(571,2-1360,8)
	t_{max} Modell	0,98 (0,85-1,02)	0,96 (0,71-1,08)	1,13 (1,02-1,42)	1,02 (0,91-1,12)
	t_{max} Rohdaten	1,17 (1,00-1,33)	1,03 (1,00-1,11)	1,20 (1,0-1,3)	1,09 (1,00-1,24)
DMG	C_{max} Modell	29,4 (18,9-40,2)	31,9 (12,7-63,6)	94,2 (44,7-69,3)	42,4 (18,7-94,7)
	C_{max} Rohdaten	34,4 (11,0-47,5)	115,7 (41,4-155,2)	124,4 (118,2-143,8)	106,1 (32,0-140,9)
	t_{max} Modell	3,4 (2,7-8,0)	6,0 (4,0-8,0)	5,9 (5,5-6,3)	5,70 (4,00-7,99)
	t_{max} Rohdaten	4,83 (4,17-6,30)	14,50 (9,44-23,03)	2,20 (1,91-12,50)	7,50 (3,73-13,63)
	t_{lag}	0,20 (0,20-0,32)	0,22 (0,12-0,24)	0,42 (0,34-0,45)	0,24 (0,19-0,43)
	K01	1,26 (1,21-1,35)	1,04 (0,61-1,14)	0,98 (0,83-1,52)	1,11 (0,76-1,35)
	t_{50abs}	0,55 (0,51-0,58)	0,67 (0,61-1,26)	0,71 (0,46-0,84)	0,62 (0,52-0,93)

Die Zeit zum Erreichen der Betain-Spitzenkonzentration (Betain t_{max}) unterscheidet sich nicht in den einzelnen Gruppen. Die Zeit zwischen Betain-Einnahme und Beginn des Anstieges der Betain-Plasma-Konzentration (t_{lag}) beträgt in Gruppe I 0,20 Std und steigt leicht in Gruppe II (0,23 Std) und Gruppe III (0,42 Std). Die Absorptionskonstante K01 beträgt in Gruppe I 1,26 Std und fällt in Gruppe II und III leicht ab. Die absolute Absorption-Halbwertszeit von Betain zeigt steigende Tendenz von Gruppe I zu Gruppe III. Die Zeit bis zum Erreichen des DMG Spitzenspiegels fällt von Gruppe I zu Gruppe III ab ($r = 0,58$, $P = 0,015$).

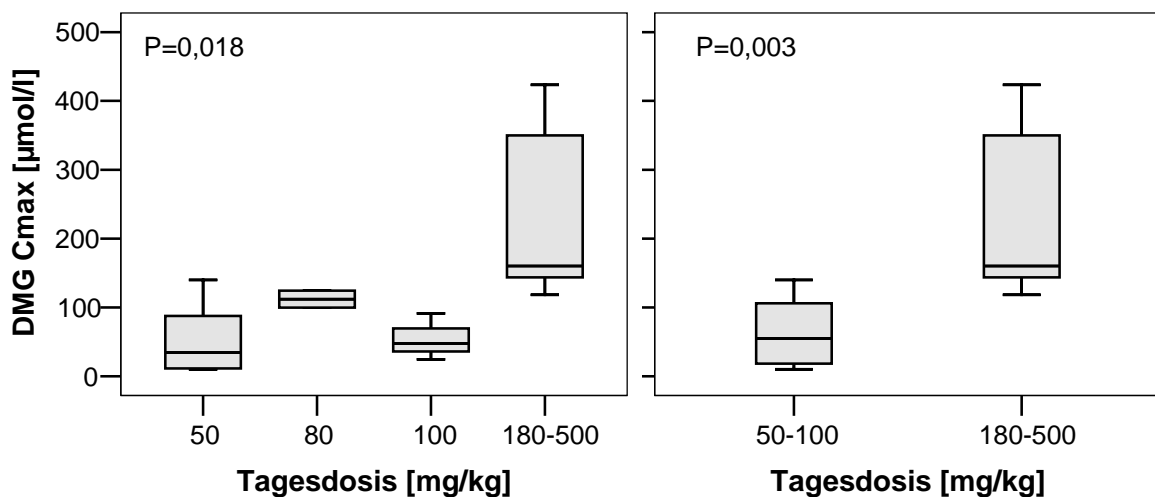
Der Betain-Spitzenpegel wird in Pyridoxin-non-responsiven CBS-Patienten etwas früher erreicht als in allen anderen Patienten (0,7 Std vs. 1,0 Std). Die Enzymdefekte unterscheiden sich nicht bezüglich t_{lag} oder K01. Die Absorptions-Halbwertszeit von Betain ist in Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten gering höher als in allen anderen Patienten (Tab. 3.7).

Tab. 3.7 : Einfluss des Enzymdefektes auf die Absorptionsparameter (Behandlungsgruppen I und II)

		MTHFR N=7	CBS B6-responsive N=3	CBS B6-partiell-respon. N=2	CBS B6-non-respon. N=4
t_{lag}	[Std]	0,2 (0,2-0,2)	0,3 (0,2-0,4)	0,2 (0,2-0,2)	0,2 (0,1-0,1)
K01	[1/Std]	1,1 (0,6-1,2)	1,3 (1,3-1,3)	1,3 (0,9-1,7)	1,2 (1,1-1,3)
t_{50abs}	[Std]	0,6 (0,6-1,3)	0,5 (0,5-0,5)	0,9 (0,6-1,2)	0,6 (0,6-0,6)

Mit steigender Betain-Einzeldosis steigt Betain C_{max} an ($r = 0,72$, $P = 0,002$). Einer Steigerung der Betain-Tagesdosis ist mit einem signifikanten Anstieg der DMG-Spitzenkonzentration (DMG C_{max}) assoziiert ($r = 0,67$, $P = 0,002$), wobei besonders Betain-Tagesdosen > 180 mg/kg zu einer verstärkten Akkumulation von DMG führen, während Dosen zwischen 50 und 100 mg/kg keinen signifikanten Unterschied bezüglich DMG C_{max} zeigen (Abb. 3.10). Im Gegensatz dazu ist die Höhe der Betain-Spitzenkonzentration unabhängig von der verabreichten Tagesdosis.

Abb. 3.10 : Einfluss der Betain-Tagesdosis auf DMG C_{max}



3.2.2 Verteilungs-Clearance

Die Verteilungs-Clearance CL_D beschreibt die Verteilung von Betain zwischen dem zentralen und dem peripheren Kompartiment. Die Verteilung von Betain erfolgt in Gruppe I und II mit 0,19 und 0,18 L/Std gleich schnell, wohingegen sie in Gruppe III mit 0,10 L/Std langsamer erfolgt ($P = 0,156$) (Tab. 3.8).

Tab. 3.8: Einfluss der Patientengruppe auf Verteilung, Metabolisierung und totale Elimination

[L/Std]	Gruppe I N=5	Gruppe II N=6	Gruppe III N=5
CL_D	0,19 (0,15-0,22)	0,18 (0,13-0,19)	0,10 (0,08-0,13)
CL_M	0,12 (0,11-0,27)	0,07 (0,03-0,11)	0,05 (0,03-0,06)
CL_E	0,68 (0,46-3,21)	0,28 (0,07-0,61)	0,29 (0,22-0,49)

Die Verteilungs-Clearance ist dabei unabhängig von der verabreichten Betain-Tagesdosis. Ein systematischer Einfluss des Enzymdefektes auf die Verteilungs-Clearance CL_D ($P = 0,539$) kann nicht nachgewiesen werden (Tab. 3.9).

Tab. 3.9: Einfluss des Enzymdefektes auf Verteilung, Metabolisierung und totale Elimination

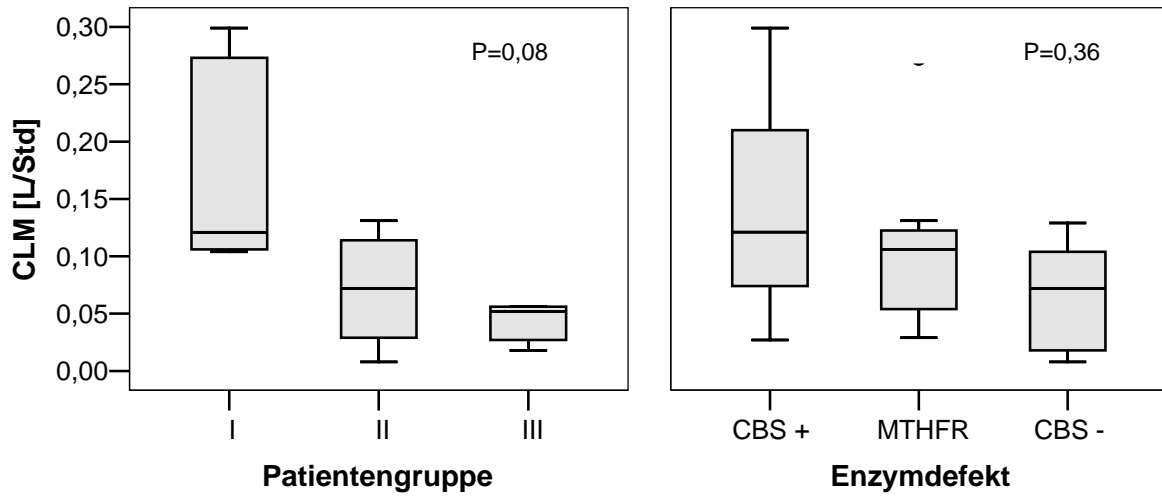
		MTHFR		CBS		
		N=7	B6-responsiv N=3	B6-partiell-respon. N=2	B6-non-respon. N=4	
CL_D	[L/Std]	0,13 (0,10-0,18)	0,15 (0,11-0,18)	0,15 (0,12-0,17)	0,19 (0,15-0,23)	
CL_M	[L/Std]	0,11 (0,05-0,12)	0,12 (0,07-0,21)	0,07 (0,06-0,09)	0,06 (0,02-0,11)	
CL_E	[L/Std]	0,66 (0,47-2,10)	0,29 (0,25-0,37)	0,07 (0,07-0,08)	0,30 (0,09-0,54)	

3.2.3 Metabolisierungs-Clearance

Die Metabolisierungs-Clearance CL_M beschreibt die Umsetzung von Betain mittels BHMT zu DMG und Methionin. Die Rate der Metabolisierungs-Clearance ist mit 0,12 L/Std in Gruppe I am höchsten und nimmt zu Gruppe II mit 0,07 L/Std ($P = 0,068$) und Gruppe III mit 0,05 L/Std ($P = 0,047$) ab. Der Unterschied in den einzelnen Patientengruppen bezüglich der Metabolisierungsrate von Betain (CL_M) ist grenzwertig nicht signifikant ($P=0,082$) (Tab. 3.8 und Abb. 11).

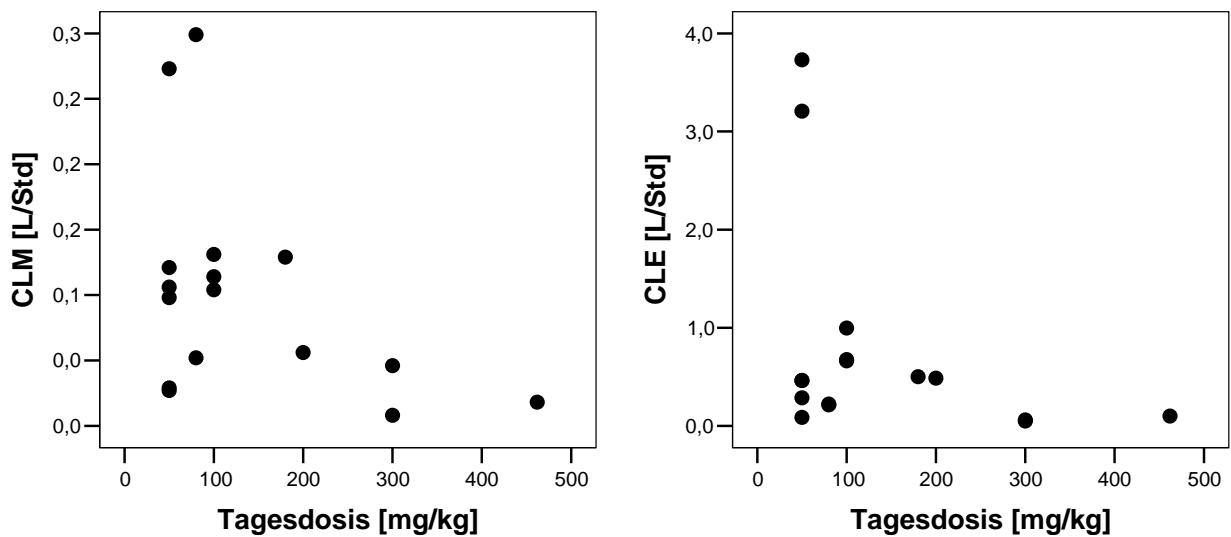
Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel weisen mit 0,06 L/Std die langsamste Betain-Metabolisierung auf. Dahingegen zeigen Patienten mit Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel (0,12 L/Std), bzw. MTHFR-Mangel (0,11 L/Std) eine doppelt so schnelle Metabolisierungs-Clearance auf. Es ist kein Unterschied zwischen Pyridoxin-non-responsiven und Pyridoxin-partiell-responsiven CBS-Patienten nachweisbar (Tab. 3.9 und Abb. 3.11).

Abb. 3.11 : Zusammenhang zwischen CL_M und Patientengruppe, bzw. Enzymdefekt (CBS+: Pyridoxin-responsiver CBS-Mangel, CBS -: Pyridoxin-non-responsiver CBS-Mangel)



Es konnte kein Einfluss der Betain-Einzeldosis auf die Metabolisierungs-Clearance nachgewiesen werden, jedoch zeigte sich eine reduzierte Metabolisierungs-Clearance bei steigender Tagesdosis (Abb. 3.12).

Abb. 3.12: Einfluss der Betain-Tagesdosis während der Testdosis auf CL_M und CL_E



3.2.4 Totale Betain-Elimination, bzw. DMG-Metabolisierung

Die metabolische Clearance von DMG (CL_E) beträgt in Gruppe I 0,68 L/Std, in Gruppe II 0,28 L/Std und in Gruppe III 0,29 L/Std. Damit erfolgt die DMG-Metabolisierung in der Gruppe I mehr als doppelt so schnell als in beiden anderen Gruppen, wohingegen sich die beiden letzten Gruppen nicht

unterschieden (Tab. 3.8). Die verschiedenen Enzymdefekte unterscheiden sich deutlich bezüglich CL_E ($P = 0,056$). CL_E der MTHFR-Patienten ist mit 0,66 L/Std doppelt so hoch wie in CBS-Patienten (0,30 L/Std). Es ist kein Unterschied zwischen Pyridoxin-non-responsiven und Pyridoxin-responsiven Patienten nachweisbar. Die Patientin mit partieller Pyridoxin-Responsivität zeigt mit 0,07 L/Std einer außergewöhnlich langsame DMG-Metabolisierung, die nur 23 % der restlichen CBS-Patienten beträgt (Tab. 3.9). CL_E zeigt eine fallende Tendenz mit steigender Betain-Tagesdosis während der Messperiode (Abb. 3.12).

3.2.5 Verteilungsvolumina für Betain

Das Verteilungsvolumen (V_D) entspricht nicht einem realen Volumen. Vielmehr ist es diejenige kinetische Größe, welche den Blut- oder Plasmaspiegel mit der im Körper vorhandenen Gesamtmenge des Medikamentes in Zusammenhang bringt. Die entsprechende Gleichung lautet:

$$V_D = \frac{\text{Gesamtmenge des exogene + endogen Betains im Körper}}{\text{Blut- oder Plasma-Konzentration}}$$

Es sei darauf hingewiesen, dass in der vorliegenden Untersuchung kein markiertes Betain verwendet wurde und damit die Unterscheidung zwischen exogenem und endogenem Betain nicht möglich ist. Das Verteilungsvolumen des zentralen, d.h. des Plasma-Kompartiments (V_1) der Gruppe I (0,39 L) ist fast doppelt so groß wie in Gruppe II (0,21 L) und III (0,22 L). Das Verteilungsvolumen des peripheren, bzw. Gewebe-Kompartiments (V_2) der Gruppe III (0,43 L) ist signifikant kleiner als Gruppe II (1,56 L) und Gruppe I (1,15 L). Das Verteilungsvolumen des Eliminations-, bzw. DMG-Kompartiments (V_3) ist am größten in Gruppe I (3,99 L), während sich kein Unterschied zwischen Gruppe II (2,43 L) und III (2,33 L) zeigt (Tab. 3.10).

Tab. 3.10: Verteilungsvolumina V_1 , V_2 , V_3 für Betain

[L]	Gruppe I N=5	Gruppe II N=6	Gruppe III N=5
V_1	0,39 (0,35-0,41)	0,21 (0,09-0,29)	0,22 (0,22-0,26)
V_2	1,15 (0,99-1,41)	1,56 (0,76-1,30)	0,43 (0,36-0,66)
V_3	3,99 (2,77-5,01)	2,43 (1,47-7,34)	2,33 (1,79-3,21)

Die Verteilungsvolumina werden beeinflusst durch den zugrunde liegendem Enzymdefekt. Patienten mit einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel weisen mit 0,41 L das größte zentrale Kompartiment auf, während das der Pyridoxin-non-responsiven und MTHFR-Patienten gleich groß ist (0,28, bzw. 0,26 L). V_1 der Patientin mit partiell Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel ist im Vergleich zu allen anderen Werten auffallend klein (Tab. 3.11).

Tab. 3.11: Einfluss des Enzymdefektes auf die Verteilungsvolumina V1, V2, V3

		MTHFR	CBS		
			B6-responsiv	B6-partiell-respon.	B6-non-respon.
		N=7	N=3	N=2	N=4
V1	[L]	0,26 (0,24-0,36)	0,41 (0,29-0,48)	0,11 (0,09-0,13)	0,28 (0,25-0,31)
V2	[L]	1,15 (0,59-1,33)	0,36 (0,35-0,67)	1,27 (0,94-1,59)	1,92 (1,14-2,46)
V3	[L]	3,99 (2,82-6,84)	3,92 (3,34-4,49)	1,49 (1,47-1,51)	1,61 (1,17-2,33)

Das periphere Kompartiment ist am größten in der Gruppe der Pyridoxin-non-responsiven Patienten (1,92 L), gefolgt von dem der MTHFR-Patienten (1,15 L). Patienten mit einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel zeigen ein sehr kleines V2 (0,36 L). Das Eliminations-Kompartiment ist am größten in der Gruppe der MTHFR- (3,99 L) und Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten (3,92 L), gefolgt von den Patienten mit Pyridoxin-non-, bzw. partiell-responsiven CBS-Patienten (1,61, bzw. 1,49 L) (Tab. 3.11). Je höher die initiale Methionin- und damit SAM-Konzentration ist, desto kleiner ist das Eliminations-Kompartiment ($r=0,62$, $P=0,011$). Ebenfalls findet sich eine signifikante negative Korrelation zwischen V3 und tHcy t_0 ($r=0,57$, $P=0,023$).

3.2.6 Homocystein-Entstehung und -Abbau

K_{in} beschreibt die Konstante der Hcy-Entstehung durch Transmethylierung von SAM. K_{out} ist die Konstante des aus Transsulfurierung und Betain-, sowie Folat-abhängiger Remethylierung resultierenden Hcy-Abfalls. Sowohl K_{in} als auch K_{out} sind in Gruppe III fast doppelt so groß wie in Gruppe I und II, die sich jeweils nicht signifikant voneinander unterscheiden (Tab. 3.12).

Tab. 3.12: tHcy-Entstehung (K_{in}) und –Abbau (K_{out}) der Gruppen I – III, dosisunabhängig

[1/Std]	Gruppe I N=5	Gruppe II N=6	Gruppe III N=5
K_{in}	0,05 (0,02-0,08)	0,03 (0,02-0,05)	0,08 (0,06-0,09)
K_{out}	0,33 (0,32-0,43)	0,34 (0,21-0,57)	0,70 (0,57-0,72)

In die Berechnung von K_{in} fließt die Höhe der initialen tHcy-Konzentration ein. Daraus ergibt sich für Patienten mit einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel die niedrigste K_{in} , während Pyridoxin-non-responsive, bzw. partiell-responsive CBS-Patienten die höchste aufweisen. Patienten mit einem Remethylierungsdefekt nehmen eine Zwischenstellung ein. K_{out} verhält sich gegenläufig (Tab. 3.13). K_{in} und K_{out} sind unabhängig von der Betain-Tagesdosis.

Tab. 3.13: Zusammenhang zwischen Enzymdefekts und K_{in} und K_{out}

		MTHFR	CBS		
			B6-responsive	B6-partiell-respon.	B6-non-respon.
		N=7	N=3	N=2	N=4
K_{in}	[1/Std]	0,05 (0,05-0,07)	0,02 (0,01-0,02)	0,14 (0,08-0,19)	0,08 (0,07-0,09)
K_{out}	[1/Std]	0,43 (0,36-0,60)	0,67 (0,49-0,81)	0,50 (0,31-0,68)	0,33 (0,22-0,50)

3.2.7 Geschlechtsspezifische pharmakokinetische Unterschiede

Die Analyse geschlechtsspezifischer pharmakokinetischer Unterschiede zeigt, dass bei männlichen Patienten ungeachtet des Alters und des Enzymdefektes die Metabolisierungs-, die Verteilungs- und die Eliminations-Clearance höher sind als bei weiblichen Patienten. Dieser Unterschied zeigt sich sowohl innerhalb von Behandlungsgruppe I und II, als auch bei Betrachtung des gesamten Patientenkollektivs (Tab. 3.14 und Abb. 3.13). Statistische Signifikanz wird nicht erreicht. Die Verteilungsvolumina sowie die Konstanten der tHcy-Entstehung und -Abbaus (K_{in} und K_{out}) zeigen keine durchgängigen geschlechtsspezifischen Unterschiede. Sind Tendenzen erkennbar, sind diese wahrscheinlich nicht auf das Geschlecht zurückführbar (Abb. 3.14).

Tab. 3.14: Geschlechtsspezifischen pharmakokinetische Unterschiede

Gruppe	Geschlecht	CL_D	CL_M	CL_E	V1	V2	V3	t50abs
		[L/Std]	[L/Std]	[L/Std]	[L]	[L]	[L]	[Std]
I	W N=3	0,15 (0,11-0,18)	0,12 (0,11-0,21)	0,46 (0,34-1,83)	0,41 (0,38-0,48)	0,99 (0,67-1,07)	3,99 (3,38-4,53)	0,55 (0,53-0,90)
	M N=2	0,21 (0,20-0,22)	0,19 (0,15-0,23)	2,20 (1,44-2,97)	0,32 (0,29-0,36)	1,44 (1,43-1,46)	3,52 (2,78-4,27)	0,55 (0,53-0,56)
II	W N=3	0,19 (0,15-0,19)	0,05 (0,04-0,07)	0,09 (0,07-0,27)	0,06 (0,06-0,11)	1,92 (1,27-2,36)	1,54 (1,49-5,11)	1,46 (0,89-1,4(9))
	M N=3	0,16 (0,14-0,21)	0,11 (0,06-0,12)	0,66 (0,36-0,83)	0,30 (0,28-0,34)	1,19 (0,85-1,81)	3,32 (2,25-6,39)	0,65 (0,62-0,67)

Abb. 3.13: Geschlechtsspezifische pharmakokinetische Unterschiede I

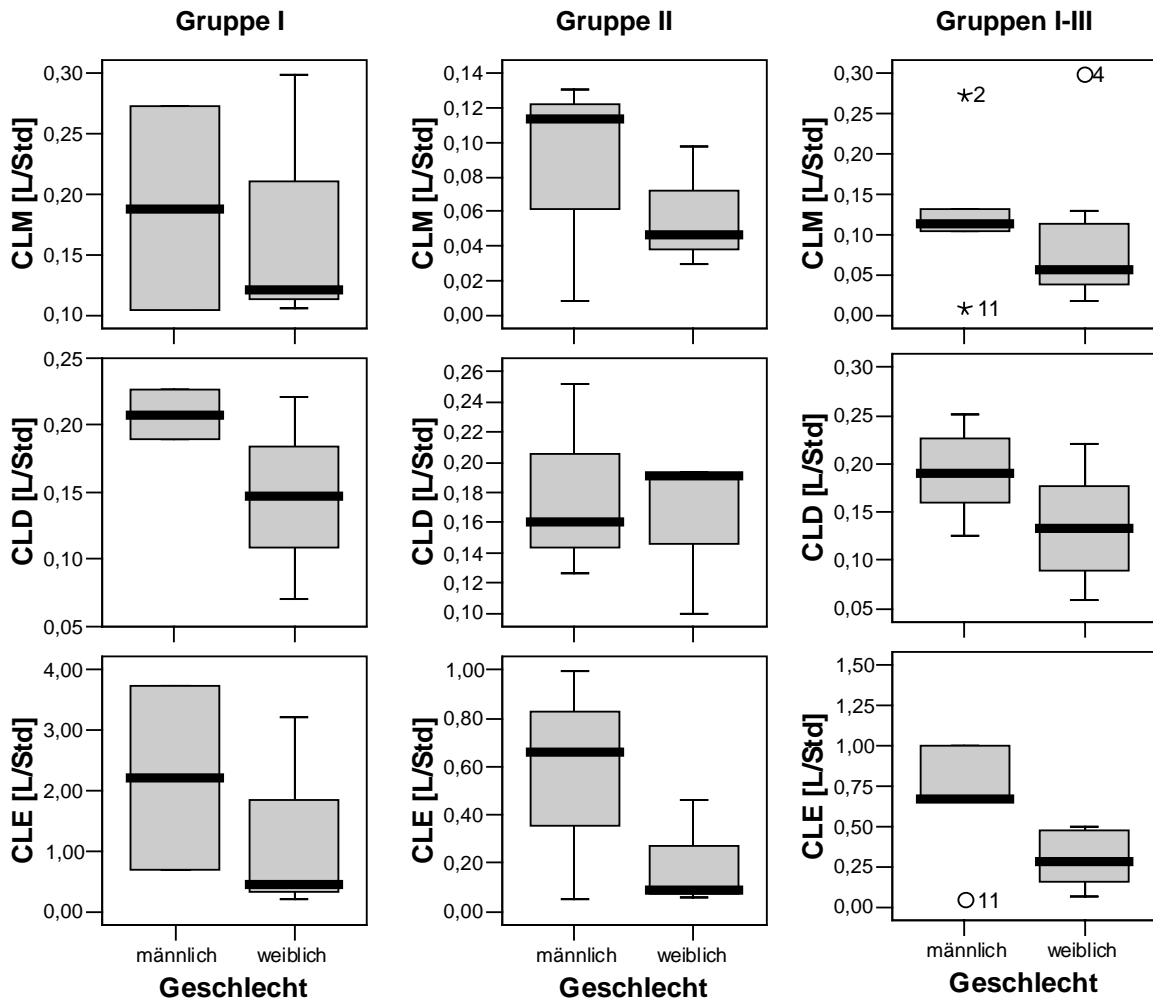
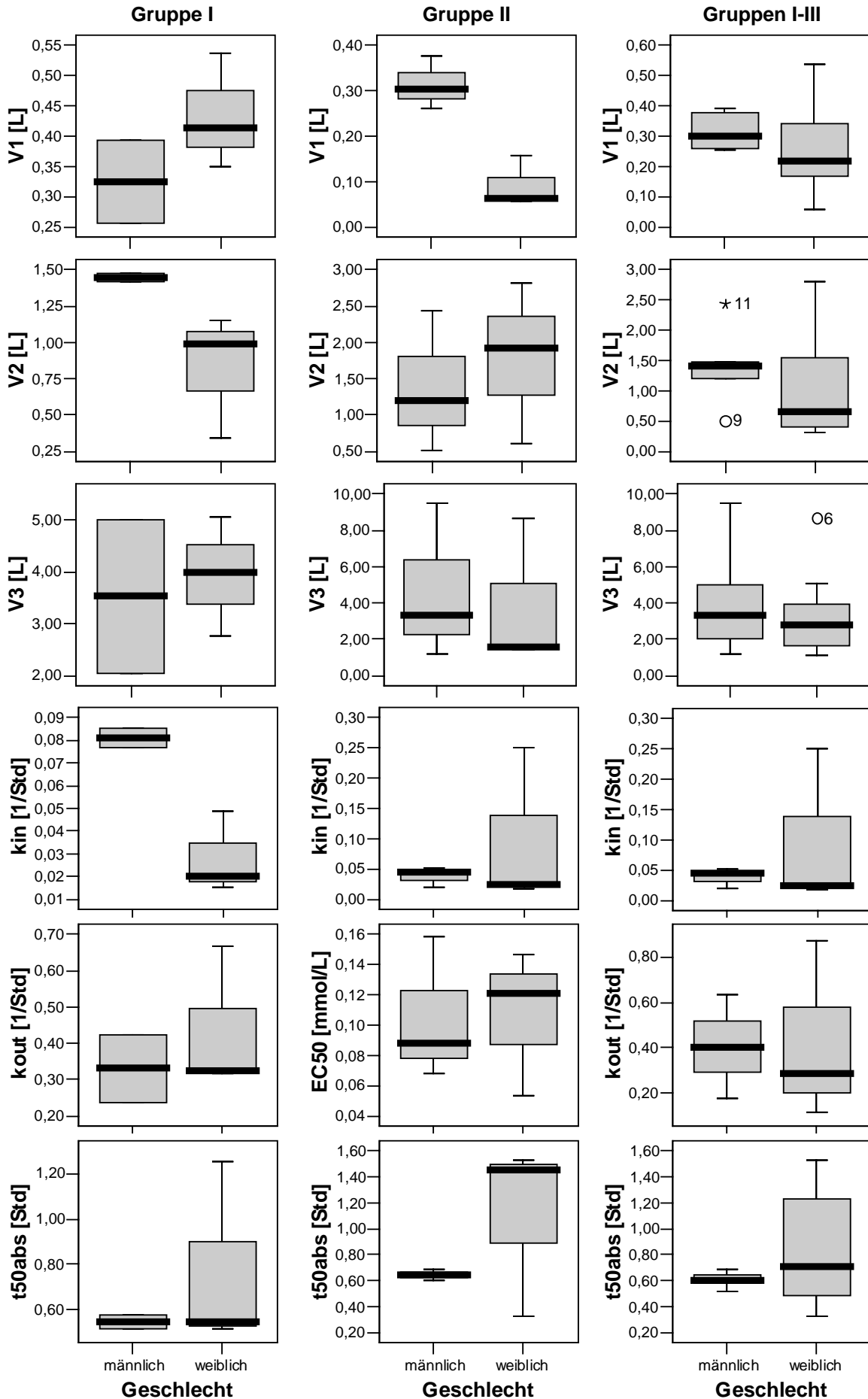


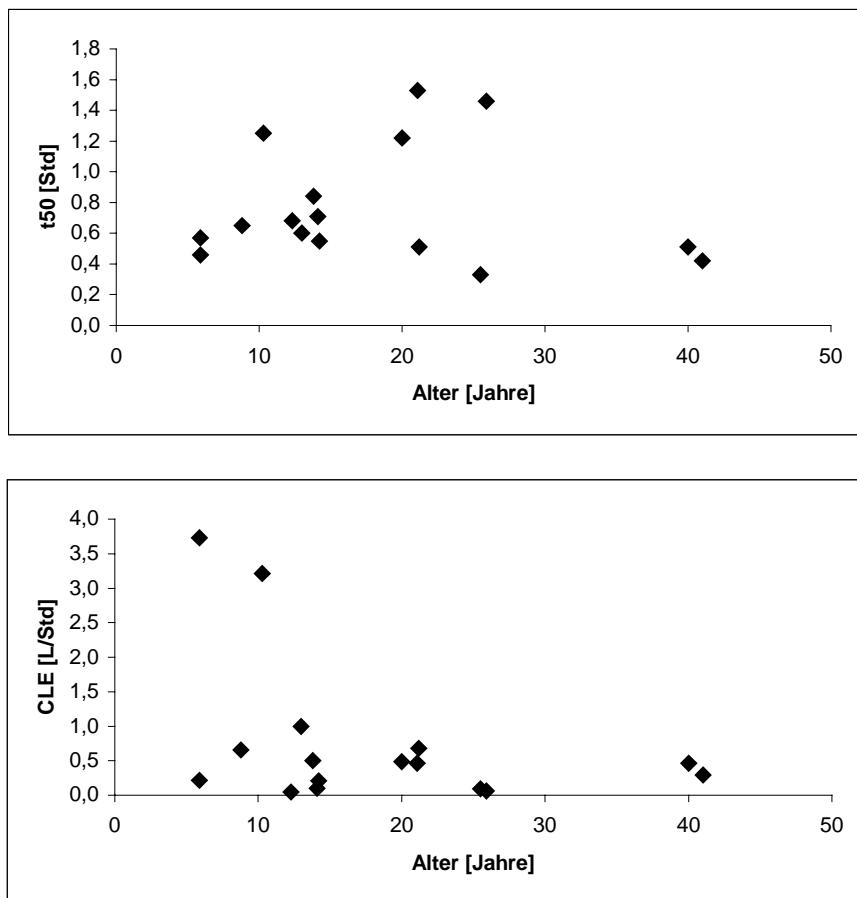
Abb. 3.14: Geschlechtsspezifische pharmakokinetische Unterschiede II



3.2.8 Einfluss des Lebensalters auf die Pharmakokinetik

Es war kein signifikanter Zusammenhang zwischen einem kinetischen Parameter und dem Lebensalter der Patienten nachweisbar. Die Eliminations-Clearance zeigt eine fallende Tendenz mit steigendem Lebensalter ($P = 0,144$), wobei dies wahrscheinlich auf zwei junge Patienten mit auffallend hoher Eliminations-Clearance zurückzuführen ist. Darüber hinaus zeigt die Absorptions-Halbwertszeit eine leicht steigende Tendenz bis zu einem Alter von circa 25 Jahren. Dieser Trend scheint ebenfalls ausschließlich durch die geringe Patientenzahl bedingt zu sein (Abb. 3.15).

Abb. 3.15: Zusammenhang zwischen Lebensalter und Pharmakokinetik



3.2.9 Einfluss der Tagesdosis auf die Pharmakokinetik

Pharmakokinetische Unterschiede zeigen sich erst, wenn niedrige (50-100 mg/kg) mit hohen (180-500 mg/kg) Betain-Tagesdosen verglichen werden. Extrem hohe Betain-Tagesdosen gehen mit einer deutlichen Reduktion der Metabolisierungs-, Verteilungs- und Eliminations-Clearance einher, während sich die Absorptions-Halbwertszeit deutlich verlängert. Dabei wird keine statistische Signifikanz erreicht. Einen Unterschied machen das Verteilungsvolumen des Eliminations-Kompartiments V_3 und die absolute Halbwertszeit. V_3 fällt mit steigender Betain-Tagesdosis, während $t_{50_{abs}}$ mit steigender Tagesdosis leicht steigt (Abb. 3.16 und 3.17).

Abb. 3.16 : Einfluss der Tagesdosis auf die Pharmakokinetik

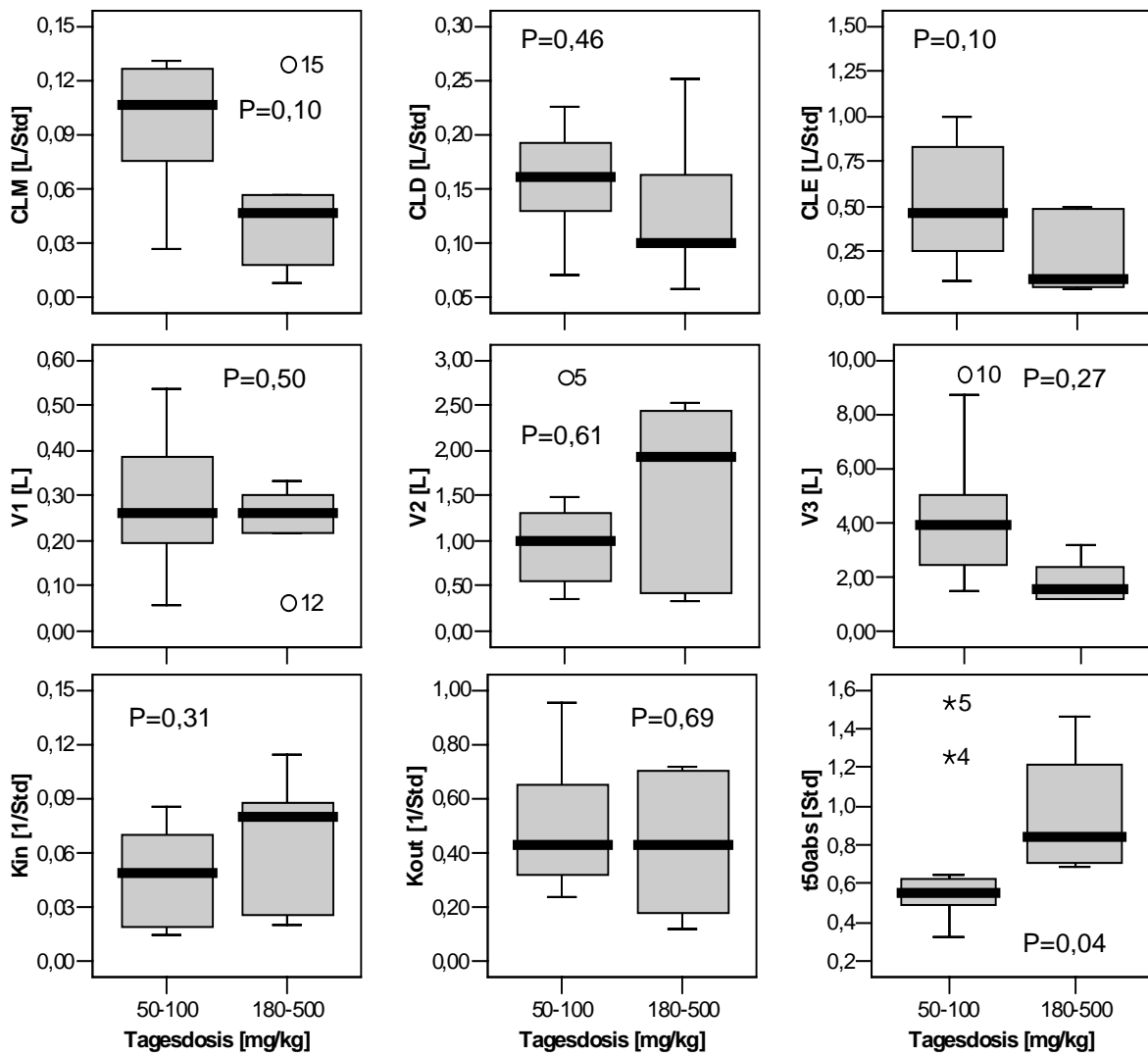
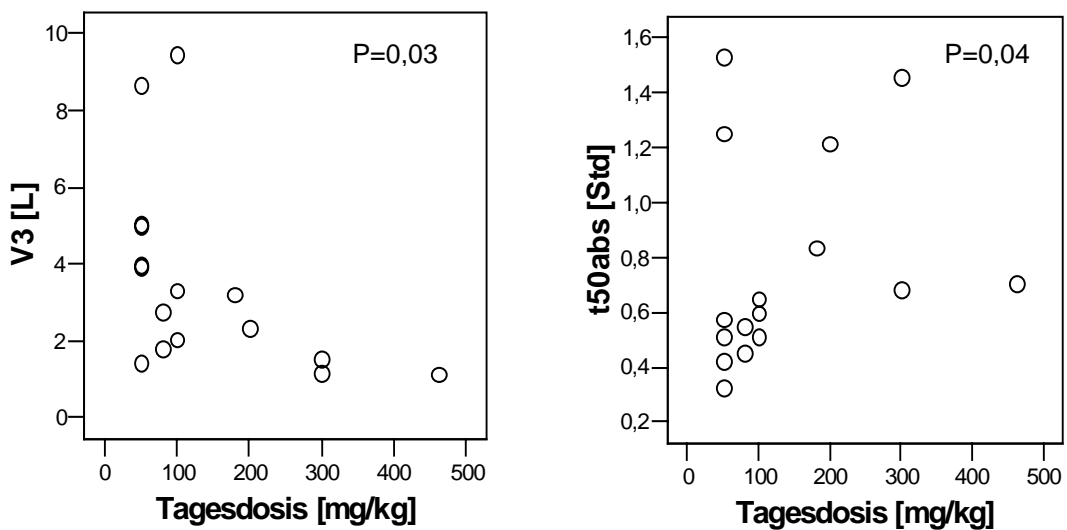


Abb. 3.17 : Einfluss der Betain-Tagesdosis auf das Verteilungsvolumen des Eliminations-Kompartiments V3 und absolute Halbwertszeit t50_{abs}



3.2.10 Interaktion zwischen den Metaboliten des Methylgruppen-Stoffwechsels und der Pharmakokinetik

Sowohl Betain C_{t_0} , DMG C_{t_0} als auch Sarcosin C_{t_0} zeigen eine signifikante positive Korrelation mit Betain C_{max} . Darüber hinaus korrelieren DMG C_{t_0} , Sarcosin C_{t_0} , tHcy C_{t_0} und Methionin C_{t_0} positiv mit DMG C_{max} . Entsprechend der signifikanten positiven Korrelation zwischen Betain C_{t_0} und DMG C_{t_0} , korrelieren Betain C_{max} und DMG C_{max} signifikant positiv miteinander. tHcy C_{t_0} zeigt eine signifikante positive Korrelation mit DMG t_{max} ($r = -0,69$, $P = 0,003$) (Tab. 3.15).

Tab. 3.15: Korrelationsmatrix der relevanten Metabolite und der kinetischen Parameter. Dargestellt werden ausschließlich signifikante Ergebnisse (obere Zeile r, untere Zeile P).

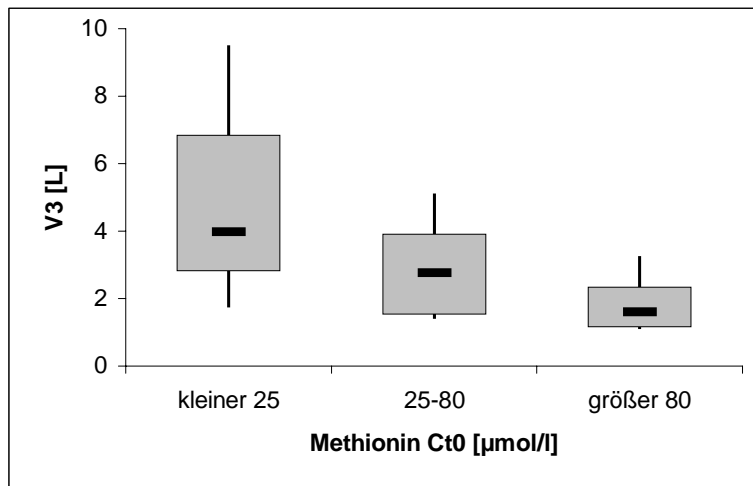
	Betain C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	DMG C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	MMG C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	tHcy C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	Met C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	Betain C_{max} [$\mu\text{mol/L}$]	DMG C_{max} [$\mu\text{mol/L}$]	CL_M [L/Std]	CL_E [L/Std]	V_1 [L]	V_3 [L]
Betain C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	1,00	0,80 0,000	0,51 0,037	-0,57 0,006		0,61 0,012					
DMG C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	0,80 0,000	1,00	0,67 0,003		0,50 0,046	0,77 0,000	0,65 0,005	-0,55 0,026			
MMG C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	0,51 0,037	0,67 0,003	1,00		0,54 0,027	0,66 0,004	0,58 0,014			-0,51 0,046	-0,52 0,041
tHcy C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	-0,57 0,006			1,00			0,69 0,003				-0,57 0,023
Met C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]		0,50 0,046	0,54 0,027		1,00		0,71 0,001		-0,57 0,021		-0,62 0,011
Betain C_{max} [$\mu\text{mol/L}$]	0,61 0,012	0,77 0,000	0,66 0,004			1,00	0,57 0,022	-0,64 0,002		-0,66 0,001	
DMG C_{max} [$\mu\text{mol/L}$]		0,65 0,005	0,58 0,014	0,69 0,003	0,71 0,001	0,57 0,022	1,00	-0,50 0,047	-0,79 0,000		-0,85 0,000
CL_M [L/Std]		-0,55 0,026				-0,64 0,002	-0,50 0,047	1,00			
CL_E [L/Std]					-0,57 0,021		-0,79 0,000		1,00		
V_1 [L]						-0,66 0,001				1,00	
V_3 [L]			-0,52 0,041	-0,57 0,023	-0,62 0,011		-0,85 0,000				1,00

Die Verteilungs-Clearance CL_D ist unabhängig von der Höhe der initialen Metaboliten. Dahingegen zeigt sich eine signifikante negative Korrelation zwischen Betain t_0 , Betain C_{max} , DMG C_{t_0} und DMG C_{max} . Die DMG-Metabolisierung CL_E korreliert signifikant negativ mit Methionin t_0 und DMG C_{max} . Das DMG-Kompartiment korreliert signifikant negativ mit Sarcosin C_{t_0} , tHcy C_{t_0} , Methionin C_{t_0} und DMG C_{max} .

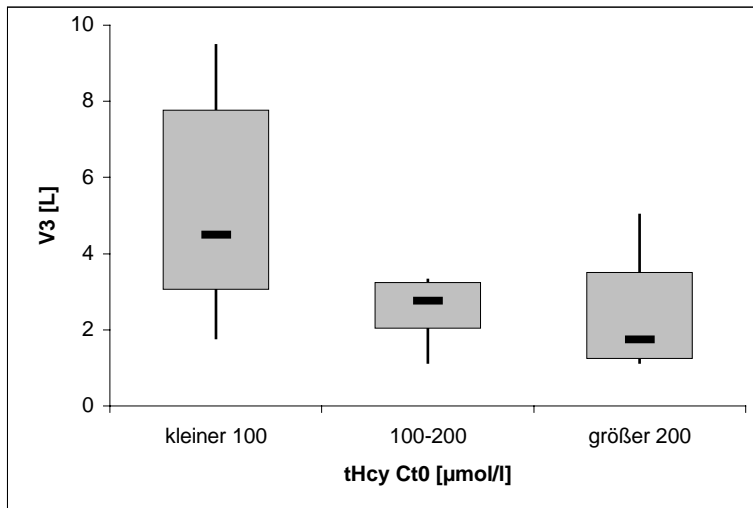
Das Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments V1 korreliert signifikant negativ mit Sarcosin C_{t_0} und Betain C_{max} . Das Verteilungsvolumen des DMG-Kompartiments V3 korreliert signifikant negativ mit Sarcosin C_{t_0} , tHcy C_{t_0} , Methionin C_{t_0} und DMG C_{max} . Das Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments V2 war unabhängig von der initialen Höhe der initialen Metabolitenkonzentration.

Abb. 3.1813 Zusammenhang von a) Methionin C_{t_0} und b) tHcy C_{t_0} mit dem Verteilungsvolumen V3

a)



b)



3.3 Pharmakodynamische Analyse der Roh- und Modelldaten

3.3.1 Betain-Effekt auf die Methionin-Plasma-Konzentration - Rohdatenanalyse

Alle Patienten zeigen unter der erstmaligen Einnahme von Betain nach durchschnittlich 6,0 Std einen deutlichen Anstieg der Methionin-Konzentration im Plasma um 23,6 $\mu\text{mol/L}$, bzw. 187,8 % des initialen Wertes. Dahingegen ist unter Steady-State Bedingungen mit 5,9 $\mu\text{mol/L}$, bzw. 107,7 % ein deutlich geringerer Methionin-Anstieg, der zusätzlich bereits nach 1,5 Std eintritt, zu beobachten. Es muss darauf hingewiesen werden, dass diese geringe Methionin-Differenz zum Teil auf einen Betain-assoziierten vorübergehenden Abfall der Methionin-Konzentration zurückzuführen war (Abb. 3.15).

Tab. 3.16: Methionin-steigernder Effekt von Betain

		Gruppe I N=5	Gruppe II N=6	Gruppe III N=6
C_{t_0}	[$\mu\text{mol/L}$]	30,0 (7,5-42,7)	38,3 (17,4-56,5)	34,6 (26,5-828,6)
C_{\max}	[$\mu\text{mol/L}$]	47,0 (31,1-80,2)	92,4 (57,3-111,1)	40,5 (27,1-778,4)
t_{\max}	[Std]	6,0 (4,8-6,0)	9,0 (3,7-18,5)	2,1 (1,3-2,4)
$\Delta\text{-Met}$	[$\mu\text{mol/L}$]	23,6 (17,0-37,5)	51,5 (38,6-59,2)	5,9 (0,6-9,8)
$\Delta\text{-Met}$	[%]	187,8 (156,7-325,4)	198,9 (142,2-300,6)	107,7 (101,9-121,6)

Der Zusammenhang zwischen Patientengruppe, Methionin C_{\max} , Methionin t_{\max} und $\Delta\text{-Methionin}$ ist dabei auch statistisch nachweisbar. Je höher die Patientengruppe, desto früher wird Methionin C_{\max} erreicht ($r = -0,62$, $P = 0,008$) und je früher Methionin C_{\max} erreicht wird, desto kleiner ist der absolute und prozentuale Methionin-Zuwachs ($r = 0,67$, $P = 0,001$).

Je höher die initiale Methionin-Konzentration, desto höher ist die Methionin-Spitzenkonzentration ($r = 0,92$, $P = 0,000$) und desto geringer ist der prozentuale durch Betain induzierte Methionin-Anstieg ($r = -0,60$, $P = 0,003$). Aber auch Hcy C_{t_0} korrelieren signifikant positiv mit Methionin C_{\max} und $\Delta\text{-Methionin}$ ($r = 0,44$, $P = 0,042$, bzw. $r = 0,57$, $P = 0,006$).

Wie bereits oben aufgeführt weisen Patienten mit einem Remethylierungsdefekt subnormale Methionin C_{t_0} auf, die signifikant niedriger sind als die der anderen Patienten. Innerhalb der Gruppe der CBS-Patienten zeigt sich eine steigende Tendenz von Pyridoxin-responsiv (34,6 $\mu\text{mol/L}$) zu partiell Pyridoxin-responsiv (55,2 $\mu\text{mol/L}$) zu Pyridoxin-non-responsiv (1065,5 $\mu\text{mol/L}$). Dabei ist zu beobachten, dass mit der Höhe des initialen, die des maximalen Methionin-Werts ($r = 0,83$, $P = 0,000$) ansteigt und je höher Methionin C_{t_0} ist, desto geringer fällt der prozentuale Zuwachs unter Betain-Einnahme aus ($r = 0,55$, $P = 0,021$). Daraus resultiert u. a. der geringe Methionin-Anstieg in der Gruppe der Pyridoxin-non-responsiven CBS-Patienten. Der Enzymdefekt hat keinerlei Einfluss auf Methionin t_{\max} (Tab. 3.17).

Tab. 3.16: Zusammenhang zwischen Enzymdefekt und dem Methionin-steigernden Effekt von Betain

	MTHFR	CBS	CBS	CBS
		B6 responsiv	B6 partiell responsiv	B6 non responsiv
	N=7	N=4	N=2	N=4
C t ₀ [µmol/L]	14,3 (9,3-19,6)	34,6 (32,9-37,2)	55,2 (53,8-56,5)	1067,5 (880,1-1107,8)
C _{max} [µmol/L]	24,0 (21,3-40,5)	45,8 (42,5-55,3)	109,2 (107,4-111,1)	1101,0 (890,5-1220,0)
t _{max} [Std]	4,8 (0,8-6,0)	3,8 (3,2-4,8)	7,5 (5,3-9,8)	4,2 (2,3-10,5)
Δ-Met [µmol/L]	14,2 (6,5-29,6)	13,1 (7,5-22,1)	54,1 (50,8-57,3)	92,4 (32,3-149,3)
Δ-Met [%]	325,4 (155,3-339,0)	141,4 (121,4-164,5)	198,9 (190,5-207,2)	116,5 (103,1-126,0)

3.3.2 Betain-Effekt auf die Serin-Plasma-Konzentration - Rohdatenanalyse

Alle Patienten zeigen unter erstmaliger Betain-Einnahme einen deutlichen Anstieg der Serin-Konzentration im Plasma um 137,2 und 148,2 µmol/L, bzw. 37,6-58,2 % des initialen Wertes. Dahingegen ist unter Steady-State Bedingungen mit 108,2 µmol/L, bzw. 10,7 % ein deutlich geringerer Serin-Anstieg zu beobachten (Tab. 3.18).

Tab. 3.18 : Zusammenhang zwischen Gruppen und dem Serin-steigernden Effekt von Betain

		Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
		N=5	N=6	N=3
C t ₀ [µmol/L]		113,0 (93,2-126,8)	123,7 (119,7-155,2)	130,8 (127,0-154,8)
C _{max} [µmol/L]		152,0 (135,0-156,5)	200,7 (191,2-206,3)	148,4 (145,0-157,9)
Δ-Serin [µmol/L]		37,6 (22,0-47,2)	58,2 (43,0-74,1)	10,7 (0,4-18,0)
Δ-Serin [%]		137,2 (119,5-143,4)	148,2 (129,8-161,3)	108,2 (100,9-114,4)

Wie bereits oben gezeigt ist Serin Ct₀ in MTHFR-Patienten höher als in Patienten mit einem CBS-Mangel. Bei vorhandener Pyridoxin-Responsivität oder partieller Pyridoxin-Responsivität ist Serin Ct₀ geringgradig höher als in Pyridoxin-non-responsiven Patienten. Der absolute und prozentuale durch Betain induzierte Serin-Anstieg ist in Patienten mit einem Pyridoxin-non- oder partiell-responsivem CBS-Mangel höher als in Pyridoxin-responsiven CBS- oder MTHFR-Patienten (Tab. 3.19).

Tab. 3.17 : Zusammenhang zwischen Enzymdefekt und dem Serin-steigernden Effekt von Betain

	MTHFR	CBS	CBS	CBS
		B6-responsiv	B6-partiell-respon.	B6-non-respon.
	N=6	N=4	N=2	N=2
C t ₀ [µmol/L]	149,3 (128,6-173,8)	118,1 (108,1-125,1)	117,3 (115,7-118,9)	106,8 (96,7-116,8)
C _{max} [µmol/L]	185,8 (169,0-202,3)	145,0 (139,9-150,4)	188,2 (178,2-198,1)	156,7 (140,4-172,9)
Δ-Serin [µmol/L]	34,8 (21,1-45,2)	23,6 (19,2-34,7)	70,9 (62,5-79,2)	49,9 (43,8-56,1)
Δ-Serin [%]	120,5 (114,3-133,9)	120,0 (116,7-132,4)	160,1 (153,7-166,4)	146,2 (144,8-147,6)

3.3.3 Betain-Effekt auf die Sarcosin-Plasma-Konzentration - Rohdatenanalyse

Sarcosin C_{t_0} liegt in den Gruppen I und II unterhalb der Nachweisgrenze. In Gruppe III beträgt Sarcosin C_{t_0} 36,9 $\mu\text{mol/L}$. Sarcosin C_{max} steigt von Gruppe I zu Gruppe III an. Die Zeit bis zum Erreichen des Sarcosin-Spitzenpiegels beträgt in Gruppe I und II 7,5 Std und verkürzt sich in Gruppe III auf 3,2 Std. Der absolute und prozentuale durch Betain induzierte Sarcosin-Anstieg ist in Gruppe III niedriger als in Gruppe I und II (Tab. 3.20).

Tab. 3.20: Sarcosin-Konzentration im Plasma unter Betain-Einnahme in den Gruppen I-III

		Gruppe I N=4	Gruppe II N=6	Gruppe III N=6
C_{t_0}	[$\mu\text{mol/L}$]	<5,0 (5,0-6,1)	<5,0 (5,0-9,0)	36,9 (23,5-42,6)
C_{max}	[$\mu\text{mol/L}$]	16,5 (15,9-16,6)	19,6 (16,0-28,3)	37,3 (21,9-51,4)
t_{max}	[Std]	7,5 (6,3-8,0)	7,4 (6,3-12,5)	3,2 (1,6-19,1)
$\Delta\text{-MMG}$	[$\mu\text{mol/L}$]	11,5 (9,8-11,6)	14,6 (11,0-18,3)	5,4 (-0,4-11,5)
$\Delta\text{-MMG}$	[%]	330,0 (317,5-332,5)	311,0 (275,1-357,0)	113,9 (99,2-145,4)

Sarcosin C_{t_0} ist am niedrigsten in Patienten mit einem Remethylierungsdefekt (<5,0 $\mu\text{mol/L}$) und am höchsten in Pyridoxin-non-responsiven Patienten (25,9 $\mu\text{mol/L}$). Sarcosin C_{max} verhält sich entsprechend. Der absolute und prozentuale durch Betain induzierte Sarcosin-Anstieg ist in Patienten mit einem Pyridoxin-non- oder partiell-responsivem CBS-Mangel höher als in Pyridoxin-responsiven CBS- oder MTHFR-Patienten (Tab. 3.21).

Tab. 3.21: Sarcosin Konzentration im Plasma unter Betain-Einnahme in den Gruppen I-III

		MTHFR N=7	CBS B6-responsiv N=3	CBS B6-partiell-respon. N=2	CBS B6-non-respon. N=4
C_{t_0}	[$\mu\text{mol/L}$]	<5,0 (5,0-5,0)	20,9 (13,0-26,2)	11,4 (11,4-11,4)	25,9 (8,2-42,5)
C_{max}	[$\mu\text{mol/L}$]	16,4 (10,1-18,7)	18,7 (17,7-25,2)	33,1 (31,9-34,2)	36,4 (17,5-58,2)
t_{max}	[Std]	6,0 (2,2-7,5)	4,0 (2,8-14,0)	19,0 (16,5-21,5)	7,4 (5,8-12,1)
$\Delta\text{-MMG}$	[$\mu\text{mol/L}$]	10,2 (0,0-11,5)	10,7 (-1,0-11,2)	21,7 (20,5-23,0)	12,7 (10,1-17,0)
$\Delta\text{-MMG}$	[%]	304,0 (100,0-330,0)	151,2 (105,4-242,6)	291,8 (278,6-304,9)	225,3 (155,4-307,0)

3.3.4 Homocystein-senkender Effekt von Betain - Rohdatenanalyse

In den Patientengruppen I und II ist bereits 5-15 Minuten nach der initialen Betain-Einnahme eine Senkung des tHcy-Spiegels zu verzeichnen. Dabei ist in diesen Gruppen eine Reduktion der pathologisch erhöhten tHcy-Spiegel um 39 % (30–44 %), bzw. 27 % (24–36 %) des Initialwertes erkennbar. Dies entspricht einem tHcy-Abfall von 44,9, bzw. 64,9 $\mu\text{mol/L}$. Dahingegen ist in der Gruppe III nur eine geringe und kurzfristige Betain-assoziierte tHcy-Senkung um 18 % (5-24 %), bzw. um 13,2 $\mu\text{mol/L}$ zu beobachten (Tab. 3.22).

Tab. 3.22: Homocystein-senkender Effekt von Betain

		Gruppe I N=5	Gruppe II N=6	Gruppe III N=6
C _{t₀}	[$\mu\text{mol/L}$]	209,2 (71,9-215,0)	196,6 (106,0-269,1)	106,9 (36,2-132,8)
C _{min}	[$\mu\text{mol/L}$]	151,2 (36,1-164,3)	96,5 (73,0-179,8)	80,7 (27,2-111,9)
t _{max}	[Std]	6,0 (6,0-7,0)	9,0 (5,0-10,5)	1,4 (1,0-3,5)
$\Delta\text{-Hcy}_{\text{Roh}}$	[$\mu\text{mol/L}$]	44,9 (35,8-63,8)	64,9 (33,0-71,7)	13,2 (4,5-23,8)
$\Delta\text{-Hcy}_{\text{Roh}}$	[%]	39,3 (29,7-43,5)	26,5 (23,9-35,7)	18,4 (6,9-25,5)
$\Delta\text{-Hcy}_{\text{Modell}}$	[$\mu\text{mol/L}$]	19,0 (12,0-30,0)	12,0 (11,3-13,5)	19,0 (13,8-25,0)

Wie bereits oben aufgeführt zeigt der tHcy C_{t₀} eine abnehmende Tendenz von Gruppe I (209,2 $\mu\text{mol/L}$) zu Gruppe III (106,9 $\mu\text{mol/L}$). Entsprechend verhält sich der minimal detektierbare tHcy-Wert (Hcy C_{min}). In Gruppe I beträgt Hcy C_{min} 151,2 $\mu\text{mol/L}$, in Gruppe II 96,5 $\mu\text{mol/L}$ und in Gruppe III 80,7 $\mu\text{mol/L}$. tHcy C_{t₀} korreliert signifikant positiv mit Hcy C_{min} ($r = 0,93$, $P = 0,000$). Das Ausmaß der tHcy-Senkung ($\Delta\text{-Hcy}$ [$\mu\text{mol/L}$]) korreliert signifikant positiv mit tHcy C_{t₀}. Je höher die initiale tHcy-Konzentration, desto größer ist die durch Betain induzierte tHcy-Senkung ($r = 0,86$, $P = 0,000$). Neben dem Ausmaß der tHcy-Senkung zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen bezüglich des Zeitpunktes, an dem Hcy C_{min} detektiert wurde (Hcy t_{min}) ($P = 0,018$). Während in Gruppe III Hcy C_{min} bereits nach 1,4 Std erreicht wird, erreicht Gruppe II (6,0 Std) und Gruppe II (9,0 Std) Hcy C_{min} erst deutlich später. Darüber hinaus zeigt sich ein verzögertes Erreichen von Hcy C_{min} mit zunehmender Höhe der initialen tHcy-Konzentration ($r = 0,55$, $P = 0,008$) und mit sinkender Höhe des initialen Betain-Werts ($r = -0,47$, $P = 0,026$). Diese Zusammenhänge erklären sich durch die signifikanten Unterschiede bezüglich tHcy-C_{t₀} und Betain C_{t₀} zwischen den einzelnen Patientengruppen. Betain C_{t₀} korreliert signifikant negativ mit tHcy C_{t₀}, Hcy C_{min}, Hcy t_{min}, $\Delta\text{-Hcy}$ [%] und $\Delta\text{-Hcy}$ [$\mu\text{mol/L}$]. DMG t_{max} korreliert signifikant negativ mit tHcy C_{t₀} ($r = -0,69$, $P = 0,003$) und negativ mit tHcy C_{min} ($r = -0,65$, $P = 0,007$) und $\Delta\text{-Hcy}$ [μmol] ($r = -0,53$, $P = 0,036$). Methionin C_{max} korreliert signifikant positiv mit tHcy C_{t₀}, $\Delta\text{-Hcy}$, $\Delta\text{-Methionin}$, $\Delta\text{-Sarcosin}$. Hcy t_{min} und Methionin t_{max} korrelieren signifikant positiv ($r = 0,46$, $P = 0,033$). Es ist kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ausmass der tHcy-Senkung und der Betain-Dosis nachweisbar (Abb. 3.23).

Tab. 3.23 : Korrelationsmatrix – Betain-Effekt auf Homocystein, Methionin und Sarcosin

	Hcy Ct ₀ [µmol/L]	Hcy C _{min} [µmol/L]	Hcy t _{min} [µmol/L]	Δ-Hcy [µmol/L]	Δ-Hcy [%]	Betain Ct ₀ [µmol/L]	Met C _{max} [µmol/L]	Δ-Met [µmol/L]	Δ-MMG [µmol/L]	Δ-MMG [%]
Hcy Ct ₀ [µmol/L]	1,00	0,93 0,000	0,55 0,008	0,86 0,000		-0,57 0,006	0,44 0,042	0,57 0,006	0,52 0,034	0,51 0,037
Hcy C _{min} [µmol/L]	0,93 0,000	1,00		0,65 0,001				0,49 0,021		
Hcy t _{min} [Std]	0,55 0,008		1,00	0,68 0,000		-0,47 0,026		0,64 0,001		0,52 0,031
Δ-Hcy [µmol/L]	0,86 0,000	0,65 0,001	0,68 0,000	1,00	0,68 0,001	-0,71 0,000	0,45 0,038	0,45 0,034	0,54 0,024	0,72 0,001
Δ-Hcy [%]				0,68 0,001	1,00	-0,60 0,003				0,66 0,004
Betain Ct ₀ [µmol/L]	-0,57 0,006		-0,47 0,026	-0,71 0,000	-0,60 0,003	1,00			-0,49 0,048	-0,74 0,001
Met C _{max} [µmol/L]	0,44 0,042			0,45 0,038			1,00	0,60 0,003	0,60 0,011	
Δ-Met [µmol/L]	0,57 0,006	0,49 0,021	0,64 0,001	0,45 0,034			0,60 0,003	1,00		0,49 0,045
Δ-MMG [µmol/L]	0,52 0,034			0,54 0,024		-0,49 0,048	0,60 0,011		1,00	0,67 0,003
Δ-MMG [%]	0,51 0,037		0,52 0,031	0,72 0,001	0,66 0,004	-0,74 0,001		0,49 0,045	0,67 0,003	1,00

3.3.5 Interaktionen zwischen den Metaboliten des Methylgruppen-Stoffwechsels

Je höher Hcy Ct₀ und je größer der Hcy-Abfall, desto höher steigt Methionin nach Betain-Einnahme an, d.h. um so höher ist der Methionin-Spitzenpegel. Entsprechend korreliert der Hcy-Abfall mit dem Methionin-Anstieg hoch signifikant positiv. Je später der Hcy t_{min} erreicht wird, desto später wird auch Methionin t_{max} erreicht. Die Spitzenpegel von Betain und Methionin korrelieren signifikant negativ miteinander. Je höher Betain C_{max}, desto früher wird Methionin C_{max} erreicht. Mit steigender Höhe von Methionin Ct₀ steigt der Methionin-Spitzenpegel an. Ist Methionin Ct₀ bereits hoch, steigt Methionin nach der Betain-Einnahme nur gering an, wohingegen niedrige initiale Methionin-Plasma-Konzentrationen mit stärkeren Anstiegen assoziiert sind. Mit steigender Höhe von Methionin C_{max} verzögert sich das Erreichen des Spitzenpegels.

DMG Ct₀ korreliert hoch signifikant negativ mit dem prozentualen Methionin-Anstieg und mit Methionin t_{max}. D.h. je niedriger DMG Ct₀, desto höher ist der Methionin-Spitzenpegel und desto später wird dieser erreicht. Methionin Ct₀ korreliert signifikant positiv mit dem Sarcosin-Spitzenpegel und mit der Höhe des Sarcosin-Anstiegs nach Betain-Einnahme. Δ-Methionin und Δ-Sarcosin korrelieren signifikant positiv miteinander. Aber je höher der Methionin-Anstieg nach Betain, desto niedriger ist der Sarcosin-Spitzenpegel. Methionin Ct₀ und Methionin C_{max} korrelieren negativ mit Serin Ct₀ (P = -

0,49, $P = 0,078$, bzw. $r = -0,60$, $P = 0,023$) . Je höher der Methionin-Spitzenpiegel, desto höher ist der Serin-Anstieg.

Alle weiteren signifikanten Zusammenhänge lassen sich den Tabellen 3.24 bis 3.26 entnehmen.

Tab. 3.24: Korrelationsmatrix –Betain- Effekt auf Homocystein und Methionin. Dargestellt werden ausschließlich signifikante Zusammenhänge (obere Zeile r , untere Zeile P).

	Hcy C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	Hcy t_{\min} [$\mu\text{mol/L}$]	Δ -Hcy [$\mu\text{mol/L}$]	Betain C_{\max} [$\mu\text{mol/L}$]	Betain t_{\max} [Std]	Met C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	Met C_{\max} [$\mu\text{mol/L}$]	Met t_{\max} [Std]	Δ -Met [$\mu\text{mol/L}$]	Δ -Met [%]
Hcy C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]	1,00	0,55 0,008	0,86 0,000				0,44 0,042		0,57 0,006	
Hcy t_{\min} [Std]	0,55 0,008	1,00	0,68 0,000					0,46 0,033	0,64 0,001	
Δ -Hcy [$\mu\text{mol/L}$]	0,86 0,000	0,68 0,000	1,00				0,45 0,038		0,45 0,034	
Betain C_{\max} [$\mu\text{mol/L}$]				1,00			-0,43 0,048	-0,44 0,043		
Betain t_{\max} [Std]					1,00			-0,43 0,048		
Met C_{t_0} [$\mu\text{mol/L}$]						1,00	0,92 0,000			-0,60 0,003
Met C_{\max} [$\mu\text{mol/L}$]	0,44 0,042		0,45 0,038	-0,43 0,048		0,92 0,000	1,00		0,60 0,003	
Met t_{\max} [Std]		0,46 0,033		-0,44 0,043	-0,43 0,048			1,00	0,60 0,003	0,67 0,001
Δ -Met [$\mu\text{mol/L}$]	0,57 0,006	0,64 0,001	0,45 0,034				0,60 0,003	0,60 0,003	1,00	
Δ -Met [%]						-0,60 0,003		0,67 0,001		1,00

Tab. 3.25: Korrelationsmatrix –Betain- Effekt auf DMG, Sarcosin und Methionin. Dargestellt werden ausschließlich signifikante Zusammenhänge (obere Zeile r, untere Zeile P).

	DMG Ct ₀ [µmol/L]	DMG C _{max} [µmol/L]	DMG t _{max} [Std]	Met Ct ₀ [µmol/L]	Met C _{max} [µmol/L]	Met t _{max} [Std]	Δ-Met [µmol/L]	Δ-Met [%]	MMG C _{max} [µmol/L]	Δ-MMG [µmol/L]
DMG Ct ₀ [µmol/L]	1,00	0,65 0,005				-0,55 0,023		-0,73 0,001		
DMG C _{max} [µmol/L]	0,65 0,005	1,00		0,71 0,001	0,59 0,013					
DMG t _{max} [Std]			1,00		0,61 0,010					
Met Ct ₀ [µmol/L]		0,71 0,001		1,00	0,92 0,000	1,00		-0,60 0,003	0,56 0,019	0,51 0,038
Met C _{max} [µmol/L]		0,59 0,013	0,61 0,010	0,92 0,000	1,00		0,60 0,003			0,60 0,011
Met t _{max} [Std]	-0,55 0,023					1,00	0,60 0,003	0,67 0,001		
Δ-Met [µmol/L]					0,60 0,003	0,60 0,003	1,00			
Δ-Met [%]	-0,73 0,001			-0,60 0,003		0,67 0,001		1,00	-0,52 0,033	0,49 0,045
MMG C _{max} [µmol/L]	0,49 0,046			0,56 0,019						
Δ-MMG [µmol/L]				0,51 0,038	0,60 0,011			0,49 0,045		

Tab. 3.26 : Korrelationsmatrix –Betain- Effekt auf Serin und Methionin. Dargestellt werden ausschließlich signifikante Zusammenhänge (obere Zeile r, untere Zeile P).

	Serin Ct ₀ [µmol/L]	Δ-Serin [µmol/L]	Δ-Serin [%]
Met Ct ₀ [µmol/L]	-0,49 0,078		
Met C _{max} [µmol/L]	-0,60 0,023	0,57 0,032	0,65 0,011
Met t _{max} [Std]		0,74 0,002	0,74 0,002
Δ-Met [µmol/L]		0,64 0,013	0,67 0,009

3.3.6 tHcy-senkender Effekt von Betain (E_{MAX} und EC_{50}) -Modelldatenanalyse

Es wird zwischen dem maximalen tHcy-senkenden Effekt von Betain ($E_{MAX\ abs}$) und der relativen Steigerungsrate der tHcy-Elimination ($E_{MAX\ \%}$), d.h. $E_{MAX\ abs}$ bezogen auf K_{out} unterschieden. Der maximale tHcy-senkende Effekt ist in Gruppe I höher als in Gruppe II und III ($P = 0,055$). Auch $E_{MAX\ \%}$ ist in Gruppe I mit 155,5 % am höchsten ($P = 0,045$), während kein Unterschied zwischen Gruppe II (135,7 %) und III (136,9 %) erkennbar ist. EC_{50} , d.h. die Betain-Konzentration, die einen halbmaximalen tHcy-senkenden Effekt hervorruft, zeigt eine steigende Tendenz von Gruppe I zu Gruppe III ohne statistische Signifikanz zu erreichen. Der dosiskorrigierte EC_{50} -Werte ist in Gruppe I deutlich höher als in Gruppe II und III (Tab. 3.27).

Tab. 3.27: Zusammenhang zwischen Patientengruppe und Pharmakodynamik

		Gruppe I N=5	Gruppe II N=6	Gruppe III N=5
$E_{MAX\ abs}$	[o.D.]	0,37 (0,22-0,38)	0,15 (0,11-0,16)	0,25 (0,23-0,26)
$E_{MAX\ \%}$	[%]	155,5 (151,1-220,6)	135,7 (133,4-152,6)	136,9 (132,0-139,2)
EC_{50}	[mmol/L]	0,09 (0,07-0,09)	0,10 (0,07-0,14)	0,11 (0,10-0,11)
$EC_{50}/Dosis$	[1/L]	0,18 (0,17-0,22)	0,07 (0,06-0,09)	0,12 (0,03-0,15)

Patienten mit einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel weisen den höchsten absoluten Betain-Effekt ($E_{MAX\ abs}$) auf, während Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven Defekt den höchsten prozentualen Betain-Effekt ($E_{MAX\ \%}$) zeigten. Patienten mit einem MTHFR-Mangel zeigen sowohl für $E_{MAX\ abs}$ als auch für $E_{MAX\ \%}$ die niedrigsten Werte ($P = 0,088$). EC_{50} verhält sich parallel zu $E_{MAX\ \%}$, erreicht jedoch im Gegensatz keine statistische Signifikanz ($P = 0,067$). Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangel weisen die niedrigsten dosiskorrigierten EC_{50} -Werte auf. Dabei ist der Unterschied zwischen den einzelnen Enzymdefekten mit 0,050 grenzwertig signifikant (Tab. 3.28).

Tab. 3.18: Zusammenhang zwischen Enzymdefekt und Pharmakodynamik

		MTHFR N=7	CBS B6-responsiv N=3	CBS B6-partiell-respon. N=2	CBS B6-non-respon. N=4
$E_{MAX\ abs}$	[o.D.]	0,16 (0,14-0,22)	0,37 (0,31-0,38)	0,18 (0,12-0,23)	0,29 (0,21-0,48)
$E_{MAX\ \%}$	[%]	137,1 (135,6-142,7)	155,5 (140,9-188,1)	145,4 (139,3-151,6)	185,4 (169,4-256,6)
EC_{50}	[mmol/L]	0,09 (0,07-0,13)	0,10 (0,10-0,11)	0,13 (0,13-0,14)	0,10 (0,08-0,11)
$EC_{50}/Dosis$	[1/L]	0,12 (0,08-0,16)	0,22 (0,20-0,23)	0,18 (0,12-0,23)	0,03 (0,03-0,04)

3.3.7 Zusammenhang zwischen initialen Metaboliten-Konzentrationen und Pharmakodynamik

Bei der Untersuchung des pharmakodynamischen Einflusses der initialen tHcy-Konzentration zeigt sich eine Verringerung des absoluten maximalen Betain-Effektes ($E_{MAX\ abs}$) mit steigender tHcy Ct_0 . Im Gegensatz dazu steigt $E_{MAX\ \%}$ bei tHcy Ct_0 Werten $> 200\ \mu\text{mol/L}$ deutlich an. Der dosiskorrigierte EC_{50} -Wert ist am höchsten bei tHcy Ct_0 Werten $< 100\ \mu\text{mol/L}$ und fällt mit steigendem tHcy Ct_0 ab. Während E_{MAX} und EC_{50} unabhängig von tHcy Ct_0 sind, sind hohe tHcy Ct_0 mit hohen Werten für $E_{MAX\ \%}$ assoziiert. Dahingegen fällt EC_{50}/Dosis mit zunehmender Hcy Ct_0 ab (Abb. 3.29). Es zeigte sich eine signifikante positive Korrelation zwischen dem Hcy Ct_0 und dem maximal erreichbarer Homocystein-senkenden Effekt ($\Delta\text{-Hcy}$) ($P=0,67$).

Tab. 3.19: Einfluss der initialen tHcy-Konzentration auf die pharmakodynamischen Parameter

		$< 100\ \mu\text{mol/L}$	$100 - 200\ \mu\text{mol/L}$	$> 200\ \mu\text{mol/L}$
$E_{MAX\ abs}$	[o.D.]	$0,25 \pm 0,05$	$0,23 \pm 0,03$	$0,19 \pm 0,12$
$E_{MAX\ \%}$	[%]	$137,1 \pm 17,8$	$136,9 \pm 9,3$	$154,4 \pm 51,2$
EC_{50}	[mmol/L]	$0,09 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,01$
EC_{50}/Dosis	[1/L]	$0,18 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,04$

Zusätzlich zeigt sich ein deutlicher Einfluss der Höhe der initialen Methionin-Konzentration auf den dosiskorrigierten EC_{50} -Wert ($P=0,008$). Methionin $Ct_0 < 100\ \mu\text{mol/L}$ sind mit einem signifikant höheren EC_{50}/Dosis -Wert assoziiert als Methionin $Ct_0 > 300\ \mu\text{mol/L}$, wie sie bei Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangel beobachtet werden ($P=0,002$). Kein signifikanter Unterschied zeigt sich zwischen Methionin $Ct_0 < 20\ \mu\text{mol/L}$ und Werten zwischen 20 und $100\ \mu\text{mol/L}$. Auch Methionin Ct_0 und Serin Ct_0 korrelieren positiv mit $E_{MAX\ \%}$ ($r = 0,675$, $P = 0,004$, bzw. ($r=-57$, $P=0,041$). Mit steigender DMG Ct_0 stieg die EC_{50}/Dosis an. ($r = 0,57$, $P = 0,021$). DMG Ct_0 korreliert negativ mit EC_{50}/Dosis ($r = -0,57$, $P=0,021$). Die Höhe der initialen Betain-Konzentration hat keinen eindeutigen Einfluss auf die Pharmakodynamik.

3.3.8 Geschlechtsspezifische pharmakodynamische Unterschiede

Die Analyse der geschlechtsspezifischen pharmakokinetischen Unterschiede zeigt, dass der maximale Hcy-senkende Effekt von Betain (E_{MAX}) in unbehandelten Frauen nur halb so groß ist wie in unbehandelten Männern. In der Gruppe II mit Betain-Einnahmpause ist dieser Unterschied nicht nachweisbar. Gruppe III war zu klein, um eine Analyse durchzuführen. EC_{50} und EC_{50}/Dosis ist sowohl in Gruppe I als auch in Gruppe II in weiblichen Patienten höher als in männlichen (Tab. 3.30).

Tab. 3.30 : Geschlechtsspezifische pharmakodynamische Unterschiede

Gruppe	Geschlecht	E_{MAX} [%]	EC_{50} [mmol/L]	$EC_{50}/Dosis$ [o.D.]
I	W N=3	155,5 (150,8-188,1)	0,09 (0,08-0,11)	0,18 (0,18-0,20)
I	M N=2	305,2 (228,2-382,3)	0,08 (0,07-0,09)	0,14 (0,11-0,18)
II	W N=3	137,1 (135,1-147,4)	0,12 (0,09-0,13)	0,08 (0,07-0,18)
II	M N=3	134,2 (129,8-161,6)	0,09 (0,08-0,12)	0,05 (0,04-0,07)

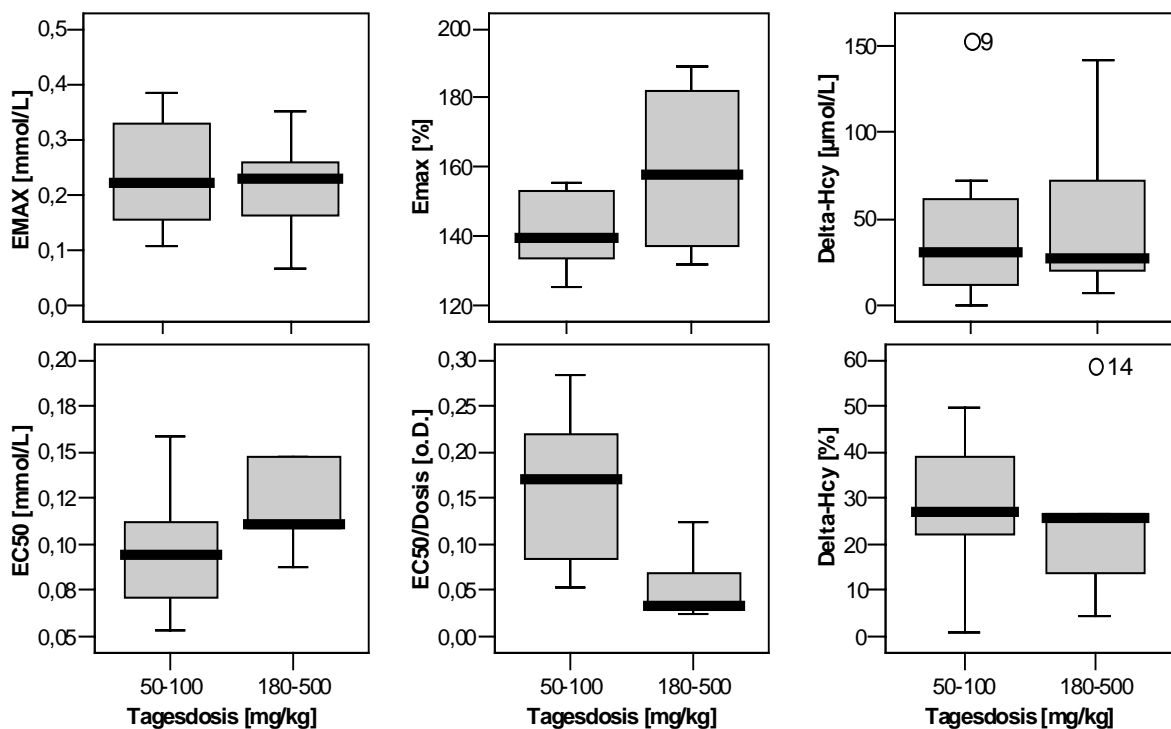
3.3.9 Einfluss des Lebensalters auf die Pharmakodynamik

Es konnte keinerlei Einfluss des Lebensalters auf die Pharmakodynamik nachgewiesen werden.

3.3.10 Einfluss der Tagesdosis auf Pharmakodynamik

Es ist keine signifikante Korrelation zwischen der Betain-Tagesdosis und einem pharmakodynamischen Parameter nachweisbar. Auch nach Bildung von zwei Gruppen (50 und 100 mg/kg KG und 180-500 mg/kg KG) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich E_{MAX} , EC_{50} und Δ -Hcy (Abb. 3.19). Ausschließlich E_{MAX} [%] ist unter sehr hohen Betain-Dosen etwas höher als unter niedrigeren Betain-Tagesdosen.

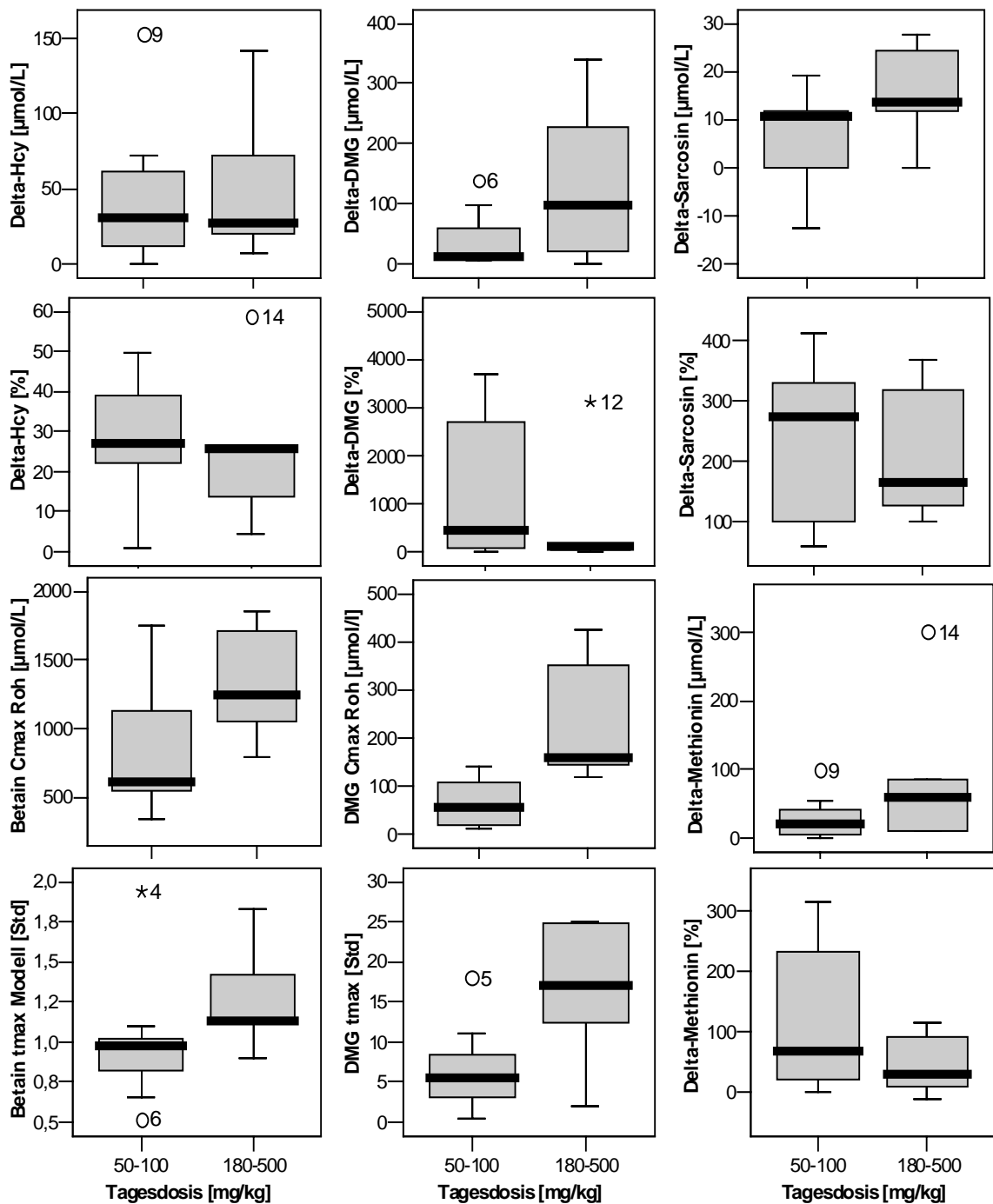
Abb. 3.19: Einflusses des Betain-Tagesdosis auf die Pharmakodynamik



Es wird ebenfalls kein statistischer Nachweis für eine Beeinflussung der Metaboliten tHcy, Sarcosin, Serin und Methionin durch die Tagesdosis gefunden. Eine Ausnahme ist die signifikant positive Korrelation zwischen Tagesdosis und Δ -DMG [$\mu\text{mol/L}$] ($r=0,506$, $P=0,038$). Betrachtet man die oben beschriebenen Gruppen, zeigen sich jedoch weitere Zusammenhänge.

Dann wird deutlich, dass hohe Betain-Tagesdosen (180-500 mg/kg KG) mit hohen Spitzenkonzentrationen von Betain, DMG sowie Methionin, und einem späteren Erreichen der Spitzenkonzentrationen von Betain und DMG verbunden sind (Abb. 3.20).

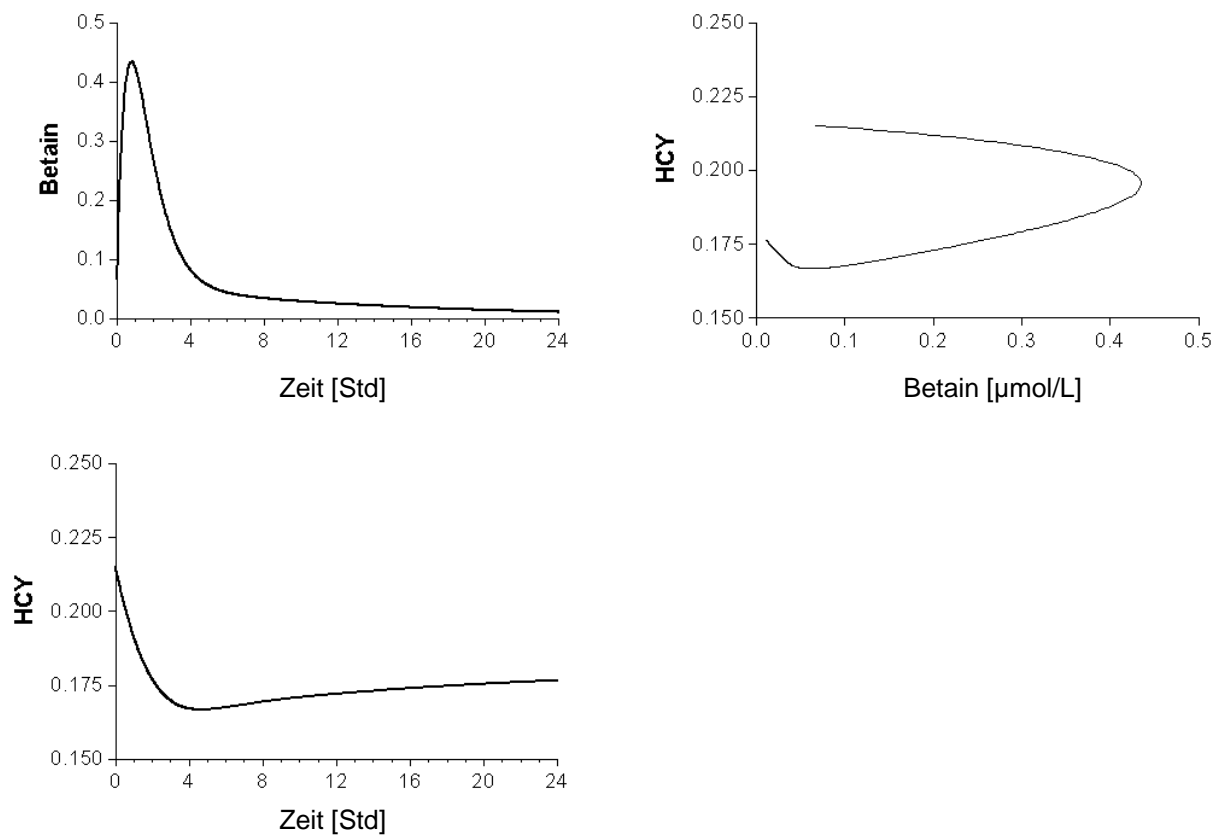
Abb. 3.20: Einfluss der Tagesdosis auf die Metabolite Betain, DMG, Sarcosin, Methionin und Hcy



3.3.11 tHcy-Konzentration im Plasma als Funktion der Zeit

Die Analyse der tHcy-Konzentration im Plasma nach Betain-Einnahme als Funktion der Plasma-Betain-Konzentration stellt sich als eine gegen den Uhrzeigersinn verlaufende Hysteresis dar. Ein repräsentatives Diagramm ist in Abbildung 3.21 gezeigt.

Abb. 3.21 : Repräsentative Veränderung der Plasma-Homocystein-Konzentration als Funktion der Plasma Betain-Konzentration in Patient ZM

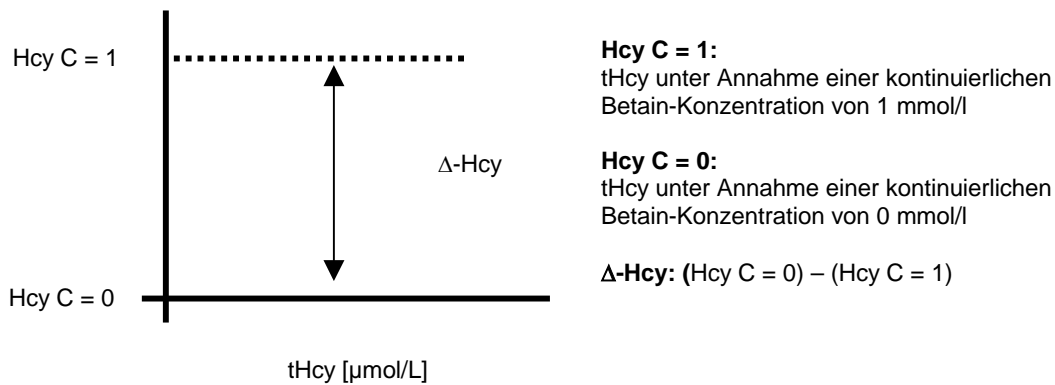


3.3.12 Aussagen aus dem Prädiktiven Modell

Von großer klinischer Bedeutung ist die maximal erreichbare tHcy-Senkung und die minimale tHcy-Konzentration unter optimalem Therapieregime. Für die Erlangung pharmakodynamischer Parameter, die eine Einschätzung der Effektivität der Betain-Therapie zulassen, wurde ein Modell entwickelt, welches Aussagen über die minimal erreichbare tHcy-Konzentration im Plasma erlaubt.

Bei Annahme einer minimal, in vivo nicht erreichbaren, Betain-Plasma-Konzentration von null mmol/l ist kein Homocystein-senkender Effekt von Betain zu erwarten. „C = 0“ entspricht der Konzentration von tHcy, auf die der Spiegel bei Fehlen jeglichen Betain-Effektes dauerhaft ansteigen würde. In unseren Untersuchungen und der vorangegangenen Probanden-Studie fanden wir durchschnittlich eine Betain-Spitzenkonzentration von 1 mmol/l. Definiert man diese als maximal erreichbare Betain-Konzentration, würde man unter ihr einen maximalen tHcy-senkenden Effekt von Betain erwarten. Dabei gingen wir von einer kontinuierlich hohen Betain-Plasma-Konzentration aus, die selbst unter sehr hoher Applikationsfrequenz in vivo nicht erreicht werden würde. „C = 1“ stellt somit die tHcy-Konzentration unter optimaler therapeutischen Situation dar, bzw. die unter optimierter Betain-Therapie minimal erreichbare tHcy-Konzentration. Der Stimuluseffekt dieses kontinuierlich hohen Betain-Niveaus auf die Homocystein-Senkung wird durch S (C = 1) ausgedrückt.

Abb. 3.22: Schematische Darstellung des prädiktiven Modells



Aufgrund der Modell-Konstruktion korrelieren die initiale Homocystein-Konzentration mit Hcy C = 0 ($r = 0,90$, $P = <0,001$), Hcy C=1 ($r = 0,92$, $P = <0,001$) und $\Delta\text{-Hcy}_{\text{Modell}}$ ($r = 0,76$, $P = 0,001$). Die Konzentration auf die sich der tHcy-Spiegel unter einer theoretischen Betain-Plasma-Konzentration von 0 mmol/l einpendeln würde, liegt in Gruppe I mit 152 $\mu\text{mol/L}$ höher als in den Gruppen II und III (111, bzw. 112 $\mu\text{mol/L}$). Ebenfalls die Konzentration auf die sich der tHcy-Spiegel unter der theoretischen Annahme einer kontinuierlich hohen Betain-Plasma-Konzentration von 1 mmol/l einstellen würde, ist in Gruppe I mit 133 $\mu\text{mol/L}$ größer als in den Gruppen II und III (98, bzw. 93 $\mu\text{mol/L}$). Die Differenz zwischen Hcy C=0 und Hcy C=1 wird durch $\Delta\text{-Hcy}_{\text{Modell}}$ angegeben und zeigt keinen Unterschied zwischen Gruppe I bis III. Der Stimulus-Effekt von Betain auf die tHcy-senkende

Wirkung ist in Gruppe I mit 1,33 o.D. höher als in Gruppe II (1,13 o.D.) und III (1,21 o.D.) (Tab. 3.31). Unter Heranziehen der Rohdaten zeigt sich, dass diese theoretischen Werte deutlich unter den tatsächlich beobachteten Betain-induzierten tHcy-Abfällen unter Studienbedingungen liegen.

Tab. 3.31: Pharmakodynamische Parameter der Patientengruppen I-III

		Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Hcy C = 0	[$\mu\text{mol/L}$]	152 \pm 59	111 \pm 36	112 \pm 32
Hcy C = 1	[$\mu\text{mol/L}$]	133 \pm 34	98 \pm 30	93 \pm 25
$\Delta\text{-Hcy}_{\text{Modell}}$	[$\mu\text{mol/L}$]	19 \pm 29	12 \pm 8	19 \pm 7
S (C = 1)	[o.D.]	1,33 \pm 0,12	1,13 \pm 0,03	1,21 \pm 0,02

Unter der theoretischen Annahme des Fehlens jeglichen Betain-Einflusses ist die Höhe des sich einstellenden tHcy-Spiegel vergleichbar mit den gemessenen initialen tHcy-Konzentrationen. In der Gruppe der Pyridoxin-non-responsiven Patienten würde sich mit einem Werte von 210 $\mu\text{mol/L}$ das höchste Niveau einstellen, gefolgt von der Gruppe der MTHFR-Patienten mit 111 $\mu\text{mol/L}$. Patienten mit einer Pyridoxin-responsiven Form des CBS-Mangels weisen auch unter gegebenen Bedingungen signifikant niedrigere tHcy-Spiegel auf. Die sich unter optimalen Therapiebedingungen einstellende tHcy-Konzentration verhält sich entsprechend. Je höher Hcy C = 0 ist, desto höher ist auch Hcy C = 1. Entsprechendes zeigt sich für $\Delta\text{-Hcy}_{\text{Modell}}$.

Die Stimulusfunktion eines kontinuierlich hohen Betain-Spiegels S (C = 1) ist in der Gruppe der CBS-Patienten höher als in der der MTHFR-Patienten, wobei sie bei Pyridoxin-Responsivität höher ist als bei ihrem Fehlen (Tab. 3.32).

Tab. 3.32: Einfluss des Enzymdefektes auf das prädiktive Modell

		MTHFR	CBS B6-responsiv	CBS B6-non-responsiv
Hcy C = 0	[$\mu\text{mol/L}$]	111 \pm 17	30 \pm 9	210 \pm 43
Hcy C = 1	[$\mu\text{mol/L}$]	99 \pm 18	64 \pm 34	154 \pm 24
$\Delta\text{-Hcy}_{\text{Modell}}$	[$\mu\text{mol/L}$]	12 \pm 4	16 \pm 8	19 \pm 28
S (C = 1)	[o.D.]	1140 \pm 17	1243 \pm 27	1206 \pm 131

Betain Ct_0 , DMG Ct_0 und Sarcosin Ct_0 zeigen keinen Einfluss auf das prädiktive Modell. Dahingegen zeigt Methionin t_0 mit steigender Höhe eine signifikante Reduktion des stimulierenden Betain-Effekt S C=1 aus ($r = -0,55$, $P = 0,028$).

3.3.13 Simulation des tHcy-senkenden Effektes von Betain bei verschiedenen Dosierungsschemata

Für die Untersuchung der Dosis- und Frequenzabhängigkeit des tHcy-senkenden Effektes von Betain wurde für jeden Patienten eine verbundene PK-PD Simulation durchgeführt. Anhand dieser konnte der Konzentrations-Zeit-Verlauf von tHcy in Abhängigkeit von der Betain-Dosis vorhergesagt werden. Als Grundlage dieses Modells dienten die modellierten Konzentrations-Zeit-Verläufe von tHcy (Indirect response model) und die pharmakokinetischen Parameter.

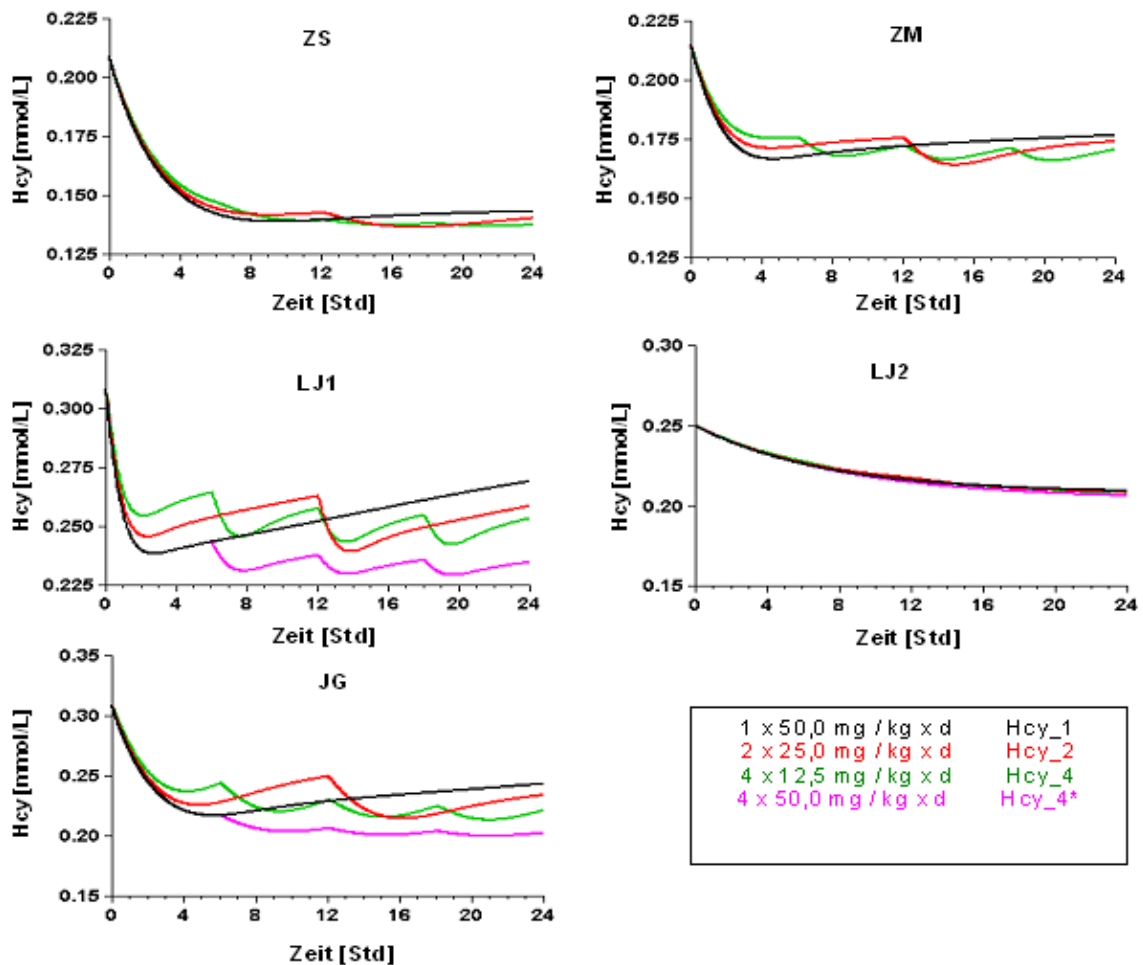
Hcy_0 entspricht der tHcy-Konzentration zum Zeitpunkt t_0 , Hcy_x steht für den zeitlichen Verlauf der tHcy-Konzentration unter den drei verwendeten Dosierungsschemata, wobei x die Anzahl der täglichen Applikationen angibt. So beschreibt Hcy_1 die tHcy Konzentration unter Verabreichung der individuellen Studien-Dosierung als Einzeldosis. Hingegen wurde im Schema Hcy_2 die Dosierung auf zwei und in Hcy_4 auf vier tägliche Applikationen verteilt.

Fünf repräsentative Diagramme für den simulierten Betain-Effekt und den resultierenden Konzentration-Zeit-Verlauf von tHcy sind in Abbildung 3.23 dargestellt. Dabei werden die vier unterschiedlichen Dosierungsschemata durch verschiedene Farben repräsentiert. In allen dargestellten Simulationen betrug die Betain-Dosis 50 mg / kg. Bei konstanter Betain-Dosis wurde der Betain-Effekt durch Steigerung der Dosisfrequenz maximiert. Jedoch zeigte sich bei genauerer Betrachtung, dass die zusätzliche Senkung des tHcy-Spiegels unter Steigerung der Dosisfrequenz sehr gering ausgeprägt ist. In der Patienten JL2 kann durch Steigerung der Dosisfrequenz kein zusätzlicher Effekt erzielt werden.

Darüber hinaus wird der zusätzliche Effekt einer Dosis-Vervierfachung (Hcy_4*: 4 x 50 mg / kg) auf den tHcy-Spiegel untersucht. Darunter zeigt sich eine geringe zusätzliche Senkung der tHcy-Konzentration im Plasma. Nicht dargestellt.

Allgemein ist der Benefit der Dosis- und Dosisfrequenzsteigerung gering. Zwei tägliche Dosen á 50 mg / kg erscheinen die optimale Applikationsfrequenz zu sein.

Abb. 3.23: Simulation der tHcy-Senkung bei verschiedenen Dosierungsschemata; Ordinate gibt die tHcy-Konzentration in mmol/l an.



Die Patientengruppe I weist entsprechend der tHcy t_0 -Werte höhere Hcy_O Werte auf als die Gruppen II und III. Auch die tHcy-Konzentrationen zum Zeitpunkt t_{24} und Δ -Hcy sind in Gruppe I höher als in beiden anderen Gruppen, unabhängig vom Dosierungsschema. In letztgenannter ergaben sich negative Werte für delta_%, die auf ansteigenden tHcy-Konzentrationen unter Betain-Einnahme beruhen. Durch die Steigerung der Dosisfrequenz auf maximal vier Applikationen kann bei konstanter Dosis der tHcy-senkende Effekt von Betain leicht gesteigert werden, jedoch beträgt der Zugewinn in allen drei Gruppen weniger als 6 μ mol/L.

Tab. 3.33: Simulation der tHcy-Senkung bei verschiedenen Dosierungsschemata

Parameter	Einheit	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
		N=4	N=6	N=4
Hcy_0	[$\mu\text{mol/L}$]	212 (167-249)	197 (106-248)	115 (93-140)
nach 24 h				
Hcy_1	[$\mu\text{mol/L}$]	160 (115-193)	102 (81-184)	121 (102-143)
Hcy_2	[$\mu\text{mol/L}$]	157 (112-189)	101 (81-183)	120 (97-146)
Hcy_4	[$\mu\text{mol/L}$]	154 (110-183)	100 (80-182)	116 (95-141)
Δ -Hcy_1	[%]	27,8 (23,2-33,0)	16,5 (13,6-26,3)	-3,0 (-6,6- -1,6)
Δ -Hcy_2	[%]	30,7 (26,2-33,0)	17,1 (16,2-27,8)	-3,6 (-7,0- -0,6)
Δ -Hcy_4	[%]	33,5 (29,8-34,9)	18,3 (17,0-28,8)	-0,9 (-2,7- -0,1)
abs. Min.				
Hcy_1	[$\mu\text{mol/L}$]	153 (110-179)	100 (79-183)	114 (92-140)
Hcy_2	[$\mu\text{mol/L}$]	150 (109-177)	99 (79-182)	113 (93-137)
Hcy_4	[$\mu\text{mol/L}$]	152 (109-178)	100 (79-181)	115 (93-139)
Δ -Hcy_1	[%]	35,9 (30,9-38,3)	21,3 (17,1-29,9)	0,19 (0,0-0,8)
Δ -Hcy_2	[%]	36,7 (31,9-38,8)	21,2 (17,3-30,5)	1,27 (0,4-2,0)
Δ -Hcy_4	[%]	35,9 (31,6-37,7)	20,6 (17,4-30,1)	0,18 (-0,1-0,9)
Integral 0-24				
Effekt_1	[hr * $\mu\text{mol/L}$]	1240 (813-1819)	88 (467-1240)	-27 (- 78 – 5)
Effekt_2	[hr * $\mu\text{mol/L}$]	1257 (832-1833)	89 (465-1261)	- 35 (- 77 – 1)
Effekt_4	[hr * $\mu\text{mol/L}$]	1268 (848-1836)	89 (468-1264)	- 76 (-806 – 1)
Δ -Hcy_1	[%]	100,0 (100-100)	100,0 (100-100)	100,0 (100-100)
Δ -Hcy_2	[%]	101,4 (100,9-103,6)	99,8 (99,4-100,7)	107,4 (91,0-138,2)
Δ -Hcy_4	[%]	102,5 (101,1-105,8)	100,2 (99,4-101,1)	181,1 (113,2-1720,3)
E_{MAX}	[%]	148,6 (147,3-149,9)	129,7 (135,7-134,2)	138,0 (137,5-138,6)

3.4 Einfluss intraindividuelle Variation der Betain-Dosis bzw. Therapiedauer auf Pharmakokinetik und Pharmakodynamik

Einige Patienten wurden mehrmals unter veränderten Bedingungen (Dosisfrequenz oder Behandlungsgruppe) untersucht. Exemplarisch sind hier die Patienten LJ und BN aufgeführt. Bei Patientin BN wurde der Einfluss der Behandlungsphase auf die PK/PD untersucht. Sie erhielt sowohl bei der erstmaligen Betain-Einnahme (Gruppe I) nach Diagnosestellung als auch nach Einführung einer dauerhaften Betain-Therapie eine Testdosis von 50 mg Betain kg KG und Tag.

Wie bereits oben gezeigt steigt Betain Ct_0 , DMG Ct_0 , Sarcosin Ct_0 und Serin Ct_0 von Untersuchung 1 zu Untersuchung 3 an, während tHcy Ct_0 nach Einführung der Betain-Dauertherapie in den Normalbereich gesenkt werden kann (Tab. 3.34).

Tab. 3.34 : Initiale Metabolitenprofile der Patienten BN und LJ

Defekt	Gruppe	Name	Betain Ct ₀	DMG Ct ₀	Sarcosin Ct ₀	tHcy Ct ₀	Methionin Ct ₀	Serin Ct ₀
CBS+	I	BN1	19,2	4,3	5,0	71,9	42,7	93,2
CBS +	III	BN2	196,9	57,0	20,9	13,9	33,9	130,8
CBS +	III	BN3	510,3	103,6	31,4	11,0	35,3	123,2
CBS +/-	II	LJ1	10,8	0,9	11,6	308,7	57,9	120,5
CBS +/-	II	LJ2	10,8	10,9	11,1	278,1	52,4	114,1

Des weiteren zeigt sich, wie bereits oben beschrieben, eine deutliche Reduktion von CL_D, CL_M, CL_E, V1, V2, V3 unter Steady-State-Bedingungen. Während die Transmethylierungs-Konstante unter Steady-State-Bedingungen fällt, steigt die Konstante des tHcy-Abbau via Transsulfurierung und Remethylierung deutlich an. Die absolute Halbwertszeit von Betain reduziert sich leicht (Tab. 3.35).

Tab. 3.35 : Zusammenhang zwischen Behandlungsphase, bzw. Betain-Tagesdosis auf PK

	T _{lag} [µmol/L]	K01 [1/Std]	CL _D [1/Std]	CL _M [1/Std]	CL _E [1/Std]	V1 [L]	V2 [L]	V3 [L]	K _{in} [1/L]	K _{out} [1/L]	T50 _{abs} [Std]
BN1	47	1,35	0,22	0,12	0,46	0,41	0,99	5,06	0,02	0,32	0,51
BN3	45	1,64	0,08	0,03	0,29	0,18	0,36	3,92	0,01	0,95	0,42
LJ1	24	2,12	0,19	0,10	0,09	0,16	0,61	1,45	0,25	0,87	0,33
LJ2	21	0,48	0,10	0,05	0,06	0,06	1,92	1,54	0,03	0,12	1,46

EC₅₀ änderte sich unter Steady-State-Bedingungen nicht, jedoch reduzierte sich wie bereits oben gezeigt der maximale tHcy-senkende Effekt von Betain unter Dauertherapie. Dies war assoziiert mit einem geringeren tHcy-Abfall (Tab. 3.36).

Tab. 3.36 : Zusammenhang zwischen Behandlungsphase, bzw. Betain-Tagesdosis auf PD

	EC ₅₀ [µmol/L]	EC ₅₀ /Dosis [o.D.]	E _{MAX} abs. [o.D.]	E _{MAX} % [%]	Δ-Hcy [µmol/L]
BN1	9	0,22	0,38	220,6	12
BN3	10	0,24	0,25	126,3	3
LJ1	12	0,28	0,29	133,1	59
LJ2	15	0,07	0,07	157,7	12

Bei LJ wurde bei unveränderter Behandlungsphase die Dosisfrequenz erhöht. Nach einer Betain-Einnahme-Pause von 7 Tagen erhielt sie entweder 1 x 50 mg / kg KG oder 4 x 50 mg / kg KG. Bei der ersten Teilnahme erhielt sie 1 x 50 mg Betain / kg KG, bei der Wiederholung 4 x 50 mg Betain / kg KG.

Während kein Unterschied zwischen Betain Ct_0 , Sarcosin Ct_0 und Methionin Ct_0 nachweisbar ist, liegen DMG Ct_0 und tHcy Ct_0 vor der zweiten Betain-Belastung signifikant höher. Gleichzeitig ist Serin Ct_0 vor erneuter Betain-Belastung deutlich niedriger (Tab. 3.34).

Ebenfalls zeigt sich eine deutliche Reduktion von CL_D , CL_M , CL_E und V_1 unter Dosissteigerung. V_2 steigt unter Steady-State-Bedingungen an, während V_3 unverändert bleibt. Sowohl K_{in} als auch K_{out} reduzieren sich, während die Halbwertszeit von Betain steigt. Der $E_{MAX\%}$ steigt unter Steigerung der Tagesdosis, während $E_{MAX\ abs}$ abfällt. Dies spiegelt die oben angeführte These wieder, dass eine Dosissteigerung über 50 mg / kg KG zu keiner weiteren tHcy-Senkung beiträgt (Tab. 3.35 und 3.36).

3.5 Renale Exkretion von Betain und DMG

In der vorliegenden Arbeit wurde nur in Patientin LJ die renale Exkretion von Betain und DMG untersucht. Dabei wurde ausschließlich Spontanurin und nicht die 24-Stunden-Exkretion von Betain und DMG analysiert. Die vorliegenden Daten zeigen, dass nach oraler Einnahme von 4 x 50 mg Betain / kg Körpergewicht (4 x 38,86 mmol), die Betain- und DMG-Konzentration im Urin parallel zur Betain-Plasma-Konzentration verläuft (Tab. 3.38). Bei Annahme eines Plasmavolumens von 40 ml/kg ergibt sich ein Gesamtvolumen von 3,64 L (BMI 26 kg/m²). Die Betain-Exkretion vor Betain-Einnahme beträgt 0,036 mmol und steigt unter der ersten Betain-Einnahme auf maximal 3,84 mmol (9,9% der aufgenommenen Menge) nach der vierten Betain-Gabe auf 4,34 mmol (11,2 % der Einzeldosis).

Die Betain- und DMG-Konzentrationen im Urin übersteigen die entsprechenden plasmatischen Konzentrationen. Betain C_{max} und DMG C_{max} werden in Urin und Plasma zeitgleich erreicht. Betain und DMG akkumulieren sowohl in Plasma als auch im Urin, dort jedoch in einem geringeren Umfang. Erwähnenswert ist, dass die DMG-Plasma-Konzentration im Gegensatz zur DMG-Konzentration im Urin oder der Betain-Konzentration in Urin und Plasma unter wiederholter Betain-Einnahme kontinuierlich steigt (Abb. 3.19 und 3.20).

Die fraktionierte Exkretion von Betain vor Betain-Einnahme beträgt 0,49 % und erreicht nach der Einnahme von 50 mg Betain / kg nach circa 1 Stunde ein Maximum von 2,75 %. Mit jeder weiteren Einnahme von Betain steigt FE_{Betain} sukzessiv an, wobei circa 3-4 Stunden nach der vorangegangenen Betain-Einnahme FE_{Betain} auf den Ausgangswert zurückfällt. Die fraktionierte Exkretion von DMG verhält sich vergleichbar. Jedoch ist bereits der Ausgangswert mit 3,70 % deutlich höher als die von Betain. Außerdem steigt sie nach Betain-Einnahme deutlich schneller und höher an und fällt zwischen den Betain-Einnahmen nicht bis auf den Ausgangswert zurück. Die fraktionierte Exkretion von Betain und DMG korrelieren signifikant positiv miteinander ($r = 0,57$) (Tab. 3.37).

Tab. 3.37 : DMG und Betain-Konzentration in Plasma und Urin vor und unter der Einnahme von 4 x 50 mg/kg = 4 x 0,427 mmol/kg, absolut 4 x 38,9 mmol Betain zu den Zeitpunkten 0, 4, 8, 12 und 24,5 Std. Creatinin im Plasma 0,9 mg/dl zum Zeitpunkt t_0 .

Zeit [Std]	Plasma		Urin				
	DMG [$\mu\text{mol/L}$]	Betain [$\mu\text{mol/L}$]	DMG [$\mu\text{mol/L}$]	Betain [$\mu\text{mol/L}$]	Kreatinin [mg/dl]	FE _{DMG} [%]	FE _{Betain} [%]
0,0	10,9	10,8	25,5	3,4	57	3,70	0,49
1,0	34,1	1054,6	1246,3	5151,6	160	20,56	2,75
2,0	75,0	464,5	1484,7	1758,9	198	9,00	1,72
4,0	100,1	237,3	300,6	16,5	101	2,68	0,06
5,0	108,8	1101,7	1885,1	3117,3	122	12,78	2,09
6,0	127,6	767,8	2918,7	2078,3	208	9,90	1,17
7,0	152,4	569,7	2212,7	682,6	161	8,12	0,67
8,0	157,8	442,1	1575,9	115,0	123	7,31	0,19
9,0	167,3	1439,7	2558,4	4282,1	79	17,42	3,39
10,0	181,8	1186,9	4094,1	8557,8	107	18,94	6,06
12,0	230,7	565,0	916,7	101,7	46	7,77	0,35
13,0	236,2	1163,6	4182,6	1096,8	137	11,63	0,62
14,0	255,9	1124,5	5922,1	9842,2	190	10,96	4,15
24,5	331,8	442,8	4234,0	3380,7	89	12,91	7,72
25,5	322,9	1429,9	5186,2	4887,9	82	17,63	3,75
26,5	320,2	1209,7	3021,0	5022,0	31	27,39	12,05
27,5	315,7	893,9	3520,6	1303,3	54	18,58	2,43
28,5	308,7	760,1	2588,1	587,4	43	17,55	1,62

Abb. 3.24 : Betain und DMG als Funktion der Zeit, Patientin LJ2, 4 x 50 mg Betain / kg

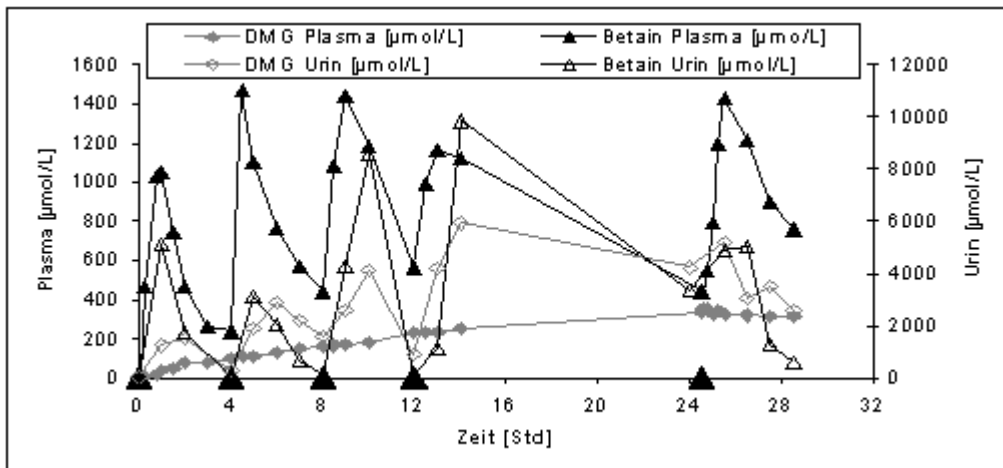
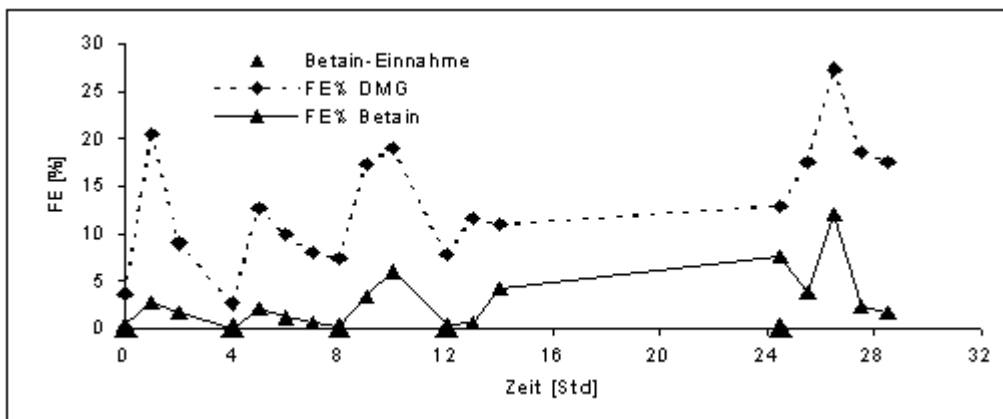


Abb. 3.25 : Fraktionierte Exkretion von Betain und DMG als Funktion der Zeit



4 DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war die Prüfung des therapeutischen Einsatzes von Betain in der Behandlung der Hyperhomocysteinämien hinsichtlich der Dosis und Wirkung. Die Gewinnung serieller Parameter des Methionin-Stoffwechsels ermöglichte die Entwicklung eines pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Modells, das simultan Betain, seinen direkten Metaboliten Dimethylglycin und Homocystein erfasst. Methionin musste aus dem Modell entfernt werden, da die Erweiterung um diesen Parameter zu einer Instabilität des Modells führte.

4.1 Plasma-Metabolitenprofile zum Zeitpunkt t_0

4.1.1 Einfluss des Enzymdefektes auf das Plasma-Metabolitenprofile

Die Art und Schwere des Enzymdefektes determiniert die Konzentration von tHcy, Methionin und Serin zum Zeitpunkt t_0

Die verschiedenen Enzymdefekte unterscheiden sich bezüglich ihres Metabolitenprofils. Abgesehen davon, dass Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangels die höchsten tHcy- und damit SAH-Plasma-Konzentrationen aufweisen, ist von ausschlaggebender Bedeutung, dass sie im Gegensatz zu anderen Defekten sehr hohe SAM-Konzentrationen haben und aufgrund der inhibitorischen Wirkung von SAM auf MTHFR und BHMT neben der gestörten Transsulfurierung auch eine gehemmte Remethylierung aufweisen. Patienten mit einem Pyridoxin-responsiven CBS-Mangel weisen hohe enzymatische Restaktivitäten auf, die zu einem milderem Phänotyp mit geringeren Abweichungen im Methylgruppen-Zyklus führen. Die leitende Veränderung in MTHFR-Patienten ist neben der Hyperhomocysteinämie ein Methionin- und damit SAM-Mangel.

Ist die Transsulfurierung aufgrund eines CBS-Defektes gestört, kommt es zu einer starken Akkumulation von Hcy und aufgrund einer verstärkten Remethylierung von Hcy und Hemmung der Transmethylierung zu einem Anstieg der Methionin-Konzentration bis auf Werte über 1000 $\mu\text{mol/L}$. Die Akkumulation von Methionin ist mit einem Anstieg von SAM und die Akkumulation von tHcy mit einem Anstieg von SAH assoziiert. Beide aktivieren die CBS, während sie einen inhibitorischen Effekt auf MTHFR und BHMT haben. Aufgrund der gesteigerten Folat-abhängigen Remethylierung wird Serin verbraucht.

Liegt eine Pyridoxin-Responsivität vor, kann eine gewisse Menge Hcy der Transsulfurierung zugeführt werden und die Remethylierungsrate ist geringer als in Patienten mit Pyridoxin-non-responsiver Enzym. Daraus ergeben sich die im Vergleich zu Pyridoxin-non-responsiven Patienten niedrigere tHcy- und Methionin-Konzentrationen, respektive SAM und SAH.

Im Falle einer gestörten Folat-abhängigen Remethylierung sind die Konzentrationen von Methionin und SAM in Abhängigkeit von der Restaktivität erniedrigt. Da die Transsulfurierungsreaktion eine höhere Kapazität für die Hcy-Metabolisierung aufweist, akkumuliert Hcy im Plasma bei Remethylierungsdefekten geringer als bei CBS-Defekten. Die stagnierende Remethylierung verbraucht kein Serin, so dass die Serin-Konzentrationen in Patienten mit einem MTHFR-Mangel im Normbereich liegen.

Die Transsulfurierung übernimmt circa 50% des tHcy-Abbaus, während die anderen 50% zu je gleichen Teilen auf die Folat-abhängige und die Betain-abhängige Remethylierung abfallen. Die Transsulfurierung ist die einzige Möglichkeit, Hcy aus dem Methylgruppen-Zyklus zu entfernen [12].

Patienten mit Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel weisen im Gegensatz zu allen anderen Patienten ausschließlich eine moderate Hyperhomocysteinämie auf (37,7 – 71,9 µmol/L). Die schwerste Hyperhomocysteinämie findet sich in Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangel (242,0 – 351,0 µmol/L). Dies resultiert aus der enzymatischen Restaktivität in den Patienten mit einer Pyridoxin-responsiven CBS-Mutation und erklärt den milderen Phänotyp dieser Patienten. Die tHcy-Plasma-Konzentrationen in Patienten mit einem Remethylierungsdefekt (59,0 – 215,0 µmol/L) weisen deutliche interindividuelle Schwankungen auf, sind jedoch deutlich niedriger als die der Pyridoxin-non-responsiven CBS-Patienten, aber höher als die der Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten.

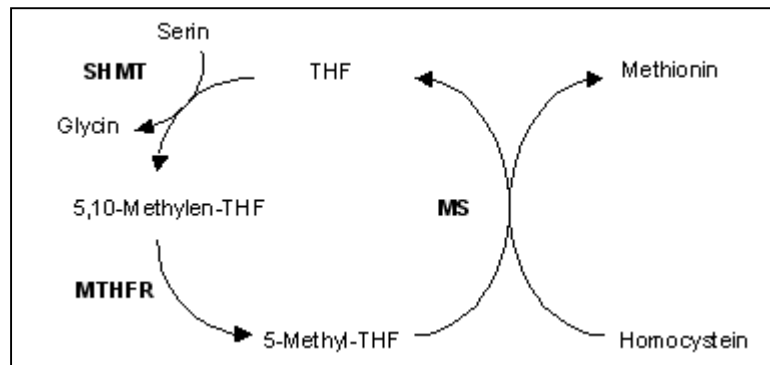
Gleichzeitig weisen Patienten mit einem Remethylierungsdefekt normale bis subnormale Methionin-Spiegel auf (14,3 µmol/L), während Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangel aufgrund der gesteigerten Remethylierung sehr hohe Methionin-Spiegel aufweisen (718 µmol/L), die jedoch eine große interindividuelle Variation aufweisen. Hingegen liegt der Methionin-Spiegel in Patienten mit einem Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel (30,0 µmol/L) entsprechend der höheren Restaktivität bzw. der geringeren Beeinträchtigung der Transsulfurierung im Normalbereich (13-43 µmol/L).

Bei einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Defekt ist der Methylgruppenstoffwechsel am stärksten beeinträchtigt. Dies erklärt sich sowohl durch die Bedeutung des Transsulfurierungsweges in der Elimination von Homocystein, als auch in einer gehemmten Remethylierung durch eine assoziierte Erhöhung des S-Adenosyl-Methionin (Abb. 1.3 Seite 15).

Aufgrund einer gesteigerten Folat-abhängigen Remethylierung weisen Patienten mit einem CBS-Mangel niedrigere Serin-Plasma-Konzentrationen auf (117,3 µmol/L, 86,6-126,9 µmol/L) als Patienten mit einem Remethylierungsdefekt (149,3 µmol/L, 119,4-178,8 µmol/L). Dabei erreicht der Zusammenhang zwischen Methionin Ct₀ und Serin Ct₀ statistische Signifikanz (r = -0,49, P = 0,078). Dies geht auf den erhöhten Verbrauch von Serin in der Synthese des Cofaktors 5-Methyl-THF zurück (Abb. 4.1). Bei vorhandener Pyridoxin-Responsivität oder partieller Pyridoxin-Responsivität ist Serin Ct₀ geringgradig höher als in Pyridoxin-non-responsiven Patienten, was aus der vorhandenen CBS-

Restaktivität und daher geringer stimulierten Remethylierung resultiert. Die vorliegenden Daten weisen im Gegensatz zu anderen Literaturangaben nur einen Patienten mit Serin-Werten unterhalb des Normbereiches (97-267 $\mu\text{mol/L}$) auf (LG 86,6 $\mu\text{mol/L}$). Dies ist wahrscheinlich durch den Ausschluss eines Pyridoxin-Mangels vor der Betainbelastung zu erklären [56-63].

Abb. 4.1: Synthese des Cofaktors 5-Methyl-THF



Tab. 4.1 : Plasma-Metabolitenprofile verschiedener Enzymdefekte

[$\mu\text{mol/L}$]	MTHFR	B6-responsiv	CBS	
			B6-partiel-responsiv	B6-non-responsiv
tHcy	↑↑	↑	↑↑-↑↑↑	↑↑↑
Methionin	n-↓	n-↑	↑-↑↑	↑↑↑
Serin	n	n-↓	↓	↓↓
Betain	n	n	n-↓	↓
DMG	n	n	n-↑	↑
Sarcosin	n	n	n-↑	n-↑

Die Art und Schwere des Enzymdefektes, d.h. Höhe der Restaktivität und Mutation bestimmt die biochemischen Charakteristika, die von großer diagnostischer Bedeutung sind. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die in der Literatur beschriebenen pathobiochemischen Konstellationen von Hcy, Methionin und Serin [56].

Die Art und Schwere des zugrunde liegenden Enzymdefektes hat keinen gesicherten Einfluss auf die Höhe von Betain, DMG und Sarcosin

CBS-Patienten weisen sowohl eine erhöhte Folat-abhängige als auch erhöhte Betain-abhängige Remethylierungsrate auf. Als Zeichen der gesteigerten Remethylierungsraten findet man neben erniedrigten Serin- und Betain-Spiegeln gesteigerte DMG- und Sarcosin-Plasma-Konzentrationen [56]. Auch wenn die vorliegenden Daten keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der Metabolite Betain, DMG und Sarcosin aufweisen ($P = 0,246, 0,175, \text{ bzw. } 0,332$), bestätigen sie dennoch die Steigerung der Folat- und Betain-abhängigen Remethylierung in Patienten mit einer Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mutation. Sie zeigen die niedrigsten Betain-Talspiegel und die höchsten DMG- und Sarcosin-Konzentrationen zum Zeitpunkt t_0 . Dabei beziehen sich diese Angaben ausschließlich auf Patienten ohne Betain-Therapie (Gruppe I und II).

Während Betain Ct_0 in Pyridoxin-partiell- oder non-responsiven CBS-Patienten (10,8-19,3 $\mu\text{mol/L}$) am niedrigsten und in Pyridoxin-responsiven Patienten (21,7 $\mu\text{mol/L}$) am höchsten ist, verhält sich DMG t_0 entgegengesetzt. DMG Ct_0 ist in Pyridoxin-non-responsiven Patienten (41,2 $\mu\text{mol/L}$, 30,6-51,7 $\mu\text{mol/L}$) signifikant höher als in allen anderen Patienten (0,15-10,9 $\mu\text{mol/l}$). MTHFR-Patienten zeigen die niedrigsten DMG-Talspiegel. Entsprechend sind die Sarcosin-Talspiegel in Pyridoxin-non- und Pyridoxin-partiell-responsiven Patienten höher als in MTHFR- oder Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten. Dabei korreliert DMG Ct_0 signifikant positiv mit Sarcosin Ct_0 ($r = 0,67$, $P = 0,003$). Aufgrund des gesteigerten Umsatzes von Betain steigt die Konzentration seines direkten Metaboliten DMG und damit auch die von Sarcosin im Plasma an. Die These, dass die Betain-abhängige Remethylierung in Pyridoxin-non-responsiven Patienten aktiviert ist, wird unterstützt durch die signifikante positive Korrelation zwischen Methionin Ct_0 und DMG Ct_0 ($r = 0,50$, $P = 0,042$), sowie zwischen Methionin Ct_0 und Sarcosin Ct_0 ($r = 0,49$, $P = 0,046$). Gleichzeitig scheinen hoher Methionin-, bzw. SAM-Spiegel mit einer verstärkten DMG- und Sarcosin-Akkumulation einherzugehen, was auf einen inhibitorischen Effekt von SAM auf DMG DH und MMG DH schließen lässt. Zusätzlich findet sich in Pyridoxin-non-responsiven Patienten eine vermehrte Bildung von Sarcosin über die Glycin-N-Methyl-Transferase (GNMH, E.C. 2.1.1.20), da das hohe Methylgruppenangebot mit einer verstärkten Methylierung einhergeht. Das Enzym GNMT reguliert die SAM Konzentration, da seine Aktivität bestimmt wird durch die Verfügbarkeit von Methionin, insbesondere intrahepatisch.

Mit zunehmender Schwere des Enzymdefektes steigt tHcy an. Wie oben bereits gezeigt, weisen Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangel die höchsten tHcy-Konzentrationen auf. Da hohe Hcy-Konzentrationen mit niedrigen Betain-Konzentrationen assoziiert sind ($r = -0,59$, $P = 0,013$), lässt sich mit einer gesteigerten Betain-abhängigen Remethylierung der Verbrauch des verfügbaren Betains und der Anstieg der Metabolite DMG und Sarcosin erklären. Entsprechend verschiedener Quellen wäre eine gehemmte Betain-abhängige Remethylierung in CBS-Patienten vorstellbar, da die pathologisch erhöhten SAM-Spiegel in diesen Patienten eine inhibitorische Wirkung auf Transmethylierungsreaktionen, so auch die MTHFR- und BHMT-Reaktion haben (Abb. 1.3, Seite 15) [73]. Dies kann durch die vorliegenden Daten jedoch nicht sicher bestätigt werden. Vorstellbar wäre, dass der aktivierende Einfluss der Hyperhomocysteinämie auf die Remethylierung den inhibitorischen Effekt ausgleicht.

4.2 Einfluss der Therapiephase auf die Plasma-Metabolitenprofil

Die Therapie-Phase, d.h. die Patientengruppe determiniert die Plasma-Konzentration von Betain, DMG und Sarcosin

Entsprechend der Therapiephase wurden drei Patienten-, bzw. Behandlungsgruppen unterschieden. Die Gruppe I enthielt ausschließlich Patienten ohne vorherige Betain-Therapie, während die Patienten der Gruppe II die Betain-Einnahme 7-10 Tage vor Studienbeginn absetzten. Die Patienten der Gruppe III waren unter kontinuierlicher Betain-Therapie. Daraus ergibt sich, dass die kumulative Betain-Dosis der Gruppe I gleich null ist und die der Gruppe II niedriger als die der Gruppe III.

Betain, DMG und Sarcosin akkumulieren unter Betain-Einnahme im Plasma .

Unter kontinuierlicher Betain-Einnahme akkumulieren Betain sowie seine Metabolite DMG und Sarcosin im Plasma. In den Patientengruppen I und II ist Betain Ct_0 (19,2 $\mu\text{mol/L}$, bzw. 17,5 $\mu\text{mol/L}$) signifikant tiefer als in Gruppe III (510,3 $\mu\text{mol/L}$) ($P = 0,006$, bzw. 0,004). Dabei ist die Höhe der Betain-Plasma-Konzentration innerhalb der Gruppe III stark abhängig vom zeitlichen Abstand der Probenentnahme zu der Betain-Einnahme. Entsprechendes findet sich für DMG Ct_0 . DMG Ct_0 steigt von Gruppe I (2,6 $\mu\text{mol/L}$) über Gruppe II (7,2 $\mu\text{mol/L}$) zu Gruppe III (108,8 $\mu\text{mol/L}$) an. Mit steigendem Betain Ct_0 steigt die Konzentration seines Metaboliten DMG Ct_0 an ($r = 0,80$, $P = 0,000$). Letzteres war wiederum mit einem Anstieg der Sarcosin-Konzentration assoziiert ($r = 0,67$, $P = 0,003$). Da Betain ausschließlich und irreversibel durch das Enzym BHMT katabolisiert wird [47], ist ein Anstieg der DMG-Plasma-Konzentration als Beweis für eine erhöhte Metabolisierung im Betain-abhängigen Weg zu werten. DMG wird ebenfalls exklusiv und irreversibel durch die DMG DH zu Sarcosin abgebaut, d.h. der Anstieg der Sarcosin-Plasma-Konzentration spricht für eine erhöhte DMG-Elimination. Interessanterweise fällt der Betain-induzierte Anstieg von DMG, Sarcosin, Methionin und Serin unter Steady-State-Bedingungen geringer aus als in zuvor unbehandelten Patienten. Dies spricht für eine Sättigung der beteiligten Reaktionen unter Betain-Dauertherapie.

Plasmatische Betain-Depletion ohne kontinuierliche Betain-Einnahme.

Betain Ct_0 ist in den Gruppen I und II (19,2 $\mu\text{mol/L}$, bzw. 17,5 $\mu\text{mol/L}$) signifikant niedriger als im Normalkollektiv (Betain: 27,0-41,1 $\mu\text{mol/L}$ und DMG: 1,30-2,02 $\mu\text{mol/L}$). Dies spricht für eine plasmatische Betain-Depletion, wie sie bereits von Schwahn et al im Tierversuch beschrieben wurde [64-66]. Diese Betain-Depletion könnte durch eine aktivierte Betain-abhängige Remethylierung bei hohem tHcy-Angebot erklärt werden. Daraus würde ein Verbrauch des hepatischen Betain-Pools und ein Anstieg der DMG-Plasma-Konzentration resultieren. Gestützt wird diese Annahme durch niedrigere Betain Ct_0 in Gruppe I als in Gruppe II. Dabei wird dieser Unterschied erst erkennbar, wenn Pyridoxin-responsive Patienten unberücksichtigt bleiben (Tab. 3.1 und 3.2). Dann ist sowohl Betain Ct_0 als auch DMG Ct_0 in unbehandelten Patienten deutlich niedriger (Betain: 12,0 vs. 17,5 $\mu\text{mol/L}$ und DMG: 0,6 vs. 7,2 $\mu\text{mol/L}$) als in Patienten nach Einhalten einer Betain-Einnahmepause von 7-10 Tagen. Nach einer derart kurzen Unterbrechung der Betain-Einnahme wurden der Betain-Pool relativ kurze Zeit zuvor noch durch eine regelmäßige therapeutische Betain-Einnahme gefüllt. In

unbehandelten Patienten sind die Betain-Reserven vollständig erschöpft und der BHMT-Reaktion steht kein Substrat zur Verfügung, woraus sich die ebenfalls subnormalen DMG-Konzentrationen ergeben.

Schwahn et al zeigten eine starke negative Korrelation zwischen Betain- und tHcy-Plasma-Konzentration in Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen und in MTHFR- und CBS-Knock-out-Mäusen [64]. Im Tierversuch wiesen diese Autoren ebenfalls eine stark signifikante negative Korrelation zwischen hepatische Betain-Konzentration und Plasma-tHcy-Konzentration bzw. hepatische BHMT-Aktivität nach [66]. Auch in der vorliegenden Untersuchungen zeigt sich eine signifikante negative Korrelation zwischen den tHcy- und Betain-Plasma-Konzentrationen ($r = -0,57$, $P = 0,006$).

Betain induziert einen Anstieg der Methionin-Plasma-Konzentration als Zeichen der gesteigerten Remethylierung, sowohl in MTHFR-, als auch in CBS-Patienten. Da bei ausgeprägter Hyperhomocysteinämie und gleichzeitig Betain-Supplementation der Remethylierung mehr Substrat zur Verfügung steht, zeigt sich eine Zunahme der Methionin-Steigerung (Δ -Methionin). Als Zeichen der beschleunigten Remethylierung zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang auch zwischen Hcy tmin und Methionin tmax. Erwartungsgemäß zeigen unbehandelte MTHFR-Patienten subnormale Methionin-Plasma-Konzentrationen (6,9 $\mu\text{mol/L}$, 6,6-7,2 $\mu\text{mol/L}$). Unter Betain-Dauertherapie steigt der Methionin-Spiegel aufgrund verstärkter Remethylierung von tHcy zu Methionin bis in den unteren Normalbereich (17,5 $\mu\text{mol/L}$, 14,3-20,8 $\mu\text{mol/L}$). Diese gesteigerte Methylgruppen-Bereitstellung kann Neurotransmittersynthese und Myelinisierung erhöhen, womit die klinische Besserung von MTHFR-Patienten unter Betain-Therapie erklärt wird [26, 77]. Jedoch bereits nach einer kurzen Unterbrechung der Betain-Einnahme fallen die Methionin-Spiegel wieder ab (15,2 $\mu\text{mol/L}$, 14,8-19,7 $\mu\text{mol/L}$). Auch in Pyridoxin-non-responsiven CBS-Patienten steigt die Methionin-Plasma-Konzentration unter Betain-Einnahme trotz bereits bestehender Hypermethioninämie unerwünschterweise weiter an. Dabei ist das Ausmass des Betain-assoziierten Methionin-Anstiegs deutlich geringer als in Patienten mit Remethylierungsstörungen. Dies erklärt sich wahrscheinlich durch die inhibitorischen Wirkung hoher, bzw. unter Betain-Einnahme steigender SAM-Plasma-Konzentrationen auf die Remethylierungs-Reaktionen. Siehe S. 83.

Die Frage nach einem möglichen pathogenen Einfluss der hohen Methionin-Spiegel, insbesondere in den CBS-Patienten mit bereits vor Betain-Einnahme stark erhöhten Methionin-Werten, ist berechtigt. Eine direkte toxische Wirkung kann Methionin nicht zugeschrieben werden. Mudd et al beschrieben das Krankheitsbild der isolierten Hypermethioninämie [67, 68], das als einzige Symptome einer milden Hepatomegalie und eine geringe Transaminasenerhöhung bei normaler psychomotorischer Entwicklung zeigt. Auch ein Defekt der Methionin-Adenosyltransaminase I, bzw. III resultiert in einer starken Hypermethioninämie variablen Umfangs. Auch hierbei sind die neurologischen Symptome mild bis moderat oder fehlen ganz. In zwei Fällen wurde der zusätzliche Betain-assoziierte Methionin-Anstieg in zwei CBS-Patienten für die schwerwiegende Komplikation eines Hirnödems verantwortlich

gemacht [83-84]. Unsere Patienten zeigten während dieser explorativen Studie sowie auch davor keinen klinischen Anhalt für eine Verschlechterung der Klinik durch die andauernde Hypermethioninämie.

Die Serin-Plasma-Konzentration steigt unter Betain-Einnahme an.

Die Serin-Plasma-Konzentration zum Zeitpunkt t_0 ist in unbehandelten Patienten (113,0 $\mu\text{mol/L}$, 93,2-126,8 $\mu\text{mol/L}$) niedriger als in Patienten unter dauerhafter, ununterbrochener Betain-Therapie (130,8 $\mu\text{mol/L}$, 127,0-154,8 $\mu\text{mol/L}$). In Patienten, die ihre Betain-Therapie 7-10 Tage vor Studienteilnahme unterbrochen haben, liegt die Serin-Plasma-Konzentration zwischen erstgenannten Werten. Diese Beobachtung ist wahrscheinlich auf eine Drosselung der Folat-abhängigen Remethylierung und damit geringeren Serin-Verbrauch in der Synthese des Cofaktors 5-Methyl-THF zurückzuführen.

4.3 Analyse der pharmakokinetischen Daten

Nach der oralen Einnahme von 50 mg Betain / kg Körpergewicht steigt in unbehandelten Patienten nach 0,20 Stunden (T_{lag}) die Betain-Konzentration im Plasma an und erreicht nach 0,92 Stunden (Betain t_{max}) einen Spitzenspiegel (Betain C_{max}) von 486,23 $\mu\text{mol/L}$. DMG steigt verzögert an und erreicht nach 3,0 Stunden (DMG t_{max}) eine Spitzenkonzentration von 24,1 $\mu\text{mol/L}$ (DMG C_{max}) im Plasma. Die rasche Absorption wird durch einen speziellen Betain-Transporter im Duodenum vermittelt. Dabei ist der relative Anteil der Na^+ -gekoppelten Betain-Aufnahme wie auch die totale Aufnahmekapazität im Duodenum größer als im Jejunum. Die orale Zufuhr von Betain steigert die duodenale Betain-Aufnahme [69]. Dabei zeigt sich eine hoch signifikante positive Korrelation zwischen der Höhe der Betain-Einzeldosis und Betain C_{max} ($r = 0,75$, $P = 0,001$). Die Bioverfügbarkeit wird auf nahezu 100% geschätzt [52].

4.3.1 Einfluss der Therapiephase auf die Pharmakokinetik

Sättigung von Absorptions-Mechanismen unter kontinuierlicher Betain-Einnahme. Die Zeit zwischen Betain-Einnahme und Beginn des Anstieges der Betain-Plasma-Konzentration (t_{lag}) verdoppelt sich unter Betain-Dauertherapie. Dies spricht für eine Sättigung des duodenalen Betain-Transporters unter kontinuierlicher Betain-Einnahme. Auch die Absorptionskonstante K_01 reduziert sich gering unter Steady-State-Bedingungen.

Betain und DMG akkumulieren unter Betain-Einnahme im Plasma. Betain C_{t_0} und DMG C_{t_0} , sowie Betain C_{max} und DMG C_{max} steigen von Gruppe I zu Gruppe III an. Beide Metabolite akkumulieren unter Betain-Einnahme im Plasma, DMG stärker als Betain. Unter Betain-Dauertherapie werden Betain-Spitzenpiegel von $1708,5 \pm 105,1 \mu\text{mol/L}$ erreicht. Da Betain ausschließlich durch die BHMT

metabolisiert wird, ist der Anstieg von DMG als Beweis für die gesteigerte Betain-abhängige Remethylierung zu werten.

Exzessive Betain-Aufnahme ins Gewebe in unbehandelten Patienten und Sättigung der Betain-Verteilung unter Betain-Dauertherapie. Unter Betain-Dauertherapie reduziert sich die Verteilungs-Clearance (CL_D) zwischen dem Plasma- und dem Gewebe-Kompartiment um 50% und das Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments (V_2) um 37%. Es ist kein Unterschied zwischen Patienten mit Therapie-Pause und unbehandelten Patienten nachweisbar. Das hohe Verteilungsvolumen (1,15, bzw. 1,56 l) in Patienten ohne aktuelle Betain-Therapie spricht für eine exzessive Aufnahme von Betain in das Gewebe-Kompartiment. Das intrazelluläre Betain ist wahrscheinlich eher durch Aufnahme aus dem Extrazellularraum als durch Synthese gewonnen. Daraus ergäbe sich ein rasches Auffüllen des entleerten hepatischen Betain-Pools bis eine Sättigung der Aufnahme unter Dauertherapie erreicht wird und Betain konsekutiv verstärkt im Gewebe akkumuliert. Sobald der Betain-Pool ausgeglichen ist, verlangsamt sich die Verteilung von Betain.

Die Metabolisierungs-Clearance und das Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments sind in unbehandelten Patienten 58%, bzw. 44% höher als unter Betain-Dauertherapie. Die Metabolisierung von Betain zu DMG (CL_M) erfolgt in unbehandelten Patienten 58% schneller als in Patienten unter kontinuierlicher Betain-Therapie, bzw. 42% höher als nach einer 7-10 tägigen Betain-Pause. Aufgrund der gesteigerten Betain-abhängigen Remethylierung wird DMG C_{max} in unbehandelten Patienten doppelt so schnell erreicht wie unter Betain-Dauertherapie. Auch das Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments (V_1) ist in unbehandelten Patienten 44% höher als nach Betain-Pause oder unter kontinuierlicher Betain-Therapie. Aufgrund der reduzierten Metabolisierungsrate unter Dauerbehandlung akkumuliert Betain verstärkt im Plasma.

Diese gesteigerte Betain-abhängige Remethylierung in unbehandelten Patienten resultiert wahrscheinlich aus einer Induktion, bzw. Stimulation der BHMT durch Hyperhomocysteinämie. Die verlangsamte Metabolisierung von Betain unter Steady-State-Bedingungen ist vermutlich verursacht durch die Sättigung der limitierten Kapazität und durch den inhibitorischen Effekt der steigenden DMG-Konzentrationen auf die BHMT-Reaktion. Darauf weist die signifikante negative Korrelation zwischen DMG C_{t_0} und CL_M ($r = -0,55$, $P = 0,026$) hin. Auch die Betain-Supplementation selbst stimuliert die BHMT-Reaktion [12]. Da die höchste kumulative Betain-Dosis in Gruppe III mit den niedrigsten Metabolisierungsraten assoziiert ist, kann die beschriebene Verlangsamung der Betain-Metabolisierung unter Dauertherapie nur durch das Überwiegen der oben genannten Effekte erklärt werden.

Die DMG-Metabolisierung erfolgt in unbehandelten Patienten mehr als doppelt so schnell wie unter Betain-Dauertherapie. Entsprechend der Betain-Metabolisierung verhält sich die DMG-Metabolisierung, d.h. die totale Betain-Elimination (CL_E). In unbehandelten Patienten ist CL_E 59% schneller als unter Betain-Dauertherapie oder nach einer Betain-Einnahme-Pause. Auch das

Verteilungsvolumen des Eliminations- bzw. DMG-Kompartiments ist unter kontinuierlicher Betain-Therapie 41% niedriger als in unbehandelten Patienten und bestätigt die Akkumulation von DMG im Plasma. Diese Verlangsamung der DMG-Metabolisierung unter Steady-State-Bedingungen erklärt sich wahrscheinlich sowohl durch Sättigung der DMG DH-Reaktion als durch Inhibition der Reaktion durch steigende Sarcosin-Konzentrationen im Sinne eines negativen Feed-backs.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass unter dauerhafter, ununterbrochener Betain-Therapie CL_D , CL_M , CL_E sowie V_1 - V_3 und K_{01} und T_{lag} signifikant niedriger (50-100%) sind als in unbehandelten Patienten. Dies erklärt sich durch

- den inhibitorischen Effekt von DMG auf BHMT und DMG DH.
- den Ausgleich der plasmatischen und hepatischen Betain-Depletion
- die Sättigung der duodenalen und hepatischen Betain-Aufnahme
- die Sättigung limitierter Enzym-Kapazitäten

unter Steady-State-Bedingungen. Jedoch zeigen auch hohe tHcy-Spiegel einen aktivierenden Effekt auf Metabolisierung und Elimination.

4.3.2 Einfluss der Betain-Dosis auf die Pharmakokinetik

Die Höhe der Betain-Einzeldosis beeinflusst ausschließlich Betain C_{max} ($r = 0,75$, $P = 0,001$). Darüber hinaus ist die Pharmakokinetik unabhängig von dieser Größe.

Mit steigender Tagesdosis steigt DMG C_{max} und fallen Metabolisierungs- und Eliminations-Clearance sowie Verteilungsvolumen des Eliminations-Kompartiments. Die Patienten AH und YN2 erhielten 6 x 50 mg Betain / kg und Tag. Darunter stieg DMG im Plasma auf 160 $\mu\text{mol/L}$, bzw. in YN2 kurzfristig auf bis zu 450 $\mu\text{mol/L}$, wobei sich ihr DMG-Spiegel im Verlauf auf Werte zwischen 225 und 250 $\mu\text{mol/L}$ einpendelte. In beiden Patienten ist diese Beobachtung mit auffallend niedrigen Eliminations-Clearances (0,049 1/L, bzw. 0,100 1/L) und kleinen Verteilungsvolumina des Eliminations-Kompartiments (1,175 L, bzw. 1,147 L) assoziiert. Das gleiche findet sich bei der Patientin mit der partiell Pyridoxin-responsiven CBS-Variante. Auch sie weist eine sehr langsame DMG-Metabolisierung und konsekutiv eine exzessive Akkumulation von DMG im Plasma auf. Dabei steigt DMG bereits nach der einmaligen Einnahme von 50 mg bereits auf 120 $\mu\text{mol/L}$ an und nach Steigerung der Tagesdosis und der Dosis-Frequenz auf 200 mg Betain / kg in vier Einzeldosen bis auf 352 $\mu\text{mol/L}$. Die Eliminations-Clearance fällt bei Dosissteigerung dabei von 0,85 1/L auf 0,60 1/L ab und das Verteilungsvolumen des Eliminations-, bzw. DMG-Kompartiments beträgt 1,45 , bzw. 1,53 L.

Nach weiterer Analyse zeigt sich eine signifikante positive Korrelation zwischen Betain-Tagesdosis und DMG C_{max} ($r = 0,63$, $P = 0,006$). Sowohl die Tagesdosis als auch DMG C_{max} korrelieren negativ mit der CL_E ($r = -0,39$, $P = 0,013$, bzw. $-0,79$, $P = 0,000$) und V_3 ($r = -0,56$, $P = 0,000$, bzw. $-0,85$, $P =$

0,000). Gleichzeitig verlangsamt sich die Betain-Metabolisierung mit steigendem DMG C_{max} ($r = 0,50$, $P = 0,47$). Das bestätigt einerseits den bereits oben beschriebenen inhibitorischen Effekt von DMG einerseits auf die Betain- und DMG-Metabolisierung, wobei die Wirkung von Sarcosin auf DMG DH stärker ausgeprägt zu sein scheint. Andererseits wird deutlich, dass DMG mit steigender Betain-Zufuhr verstärkt akkumuliert und damit indirekt den tHcy-senkenden Effekt von Betain reduziert. So steigt auch EC_{50} , d.h. die Betain-Konzentration, die einen halbmaximalen tHcy-senkenden Effekt hervorruft. Je höher DMG C_{max} , desto mehr Betain ist erforderlich um den gleichen Effekt hervorzurufen ($r = 0,55$, $P = 0,028$). Zu hohe Betain-Dosen (≥ 100 , bzw. 200 mg/kg täglich) erzielen keinen weiteren tHcy-senkenden Effekt, da sie aufgrund steigender Akkumulation von DMG die Reaktion limitieren.

Hohe Betain-Konzentrationen sind mit einer gesteigerten Betain-abhängigen Remethylierung von Homocystein zu Methionin assoziiert. Je höher die initiale Betain-Konzentration, desto höher ist die Konzentration seines Metabolite DMG und Sarcosin. Da Betain das exklusive Substrat der BHMT ist, ist der Anstieg der Produkte Beweis der gesteigerten Remethylierung. Je mehr Substrat der Reaktion zur Verfügung steht, desto größer ist der Umsatz. Die gesteigerte BHMT-Reaktion geht mit einer tHcy-Senkung einher. Je höher die initiale Betain-Konzentration, desto niedriger ist die tHcy-Konzentration zum Zeitpunkt null. Mit steigender Betain-Konzentration steigt die Geschwindigkeit der tHcy-Senkung an, d.h. durch beschleunigte Betain-abhängige Remethylierung wird Hcy C_{min} schneller erreicht. Das wird bestätigt durch den beschleunigten Anstieg der Methionin-Konzentration.

Die Betain-Tagesdosis hat keinen direkt nachweisbaren Effekt auf Verteilungs-Clearance und die Verteilungsvolumina des zentralen und peripheren Kompartiments.

4.3.3 Betain stimuliert den Hcy-Turn-over

Betain stimuliert die Transmethylierung von Methionin. In der vorliegenden Untersuchung steigt die Transmethylierungsrate (K_{in}) unter kontinuierlicher Betain-Therapie um 60 % im Vergleich zu unbehandelten Patienten oder Patienten mit Betain-Einnahme-Pause (Tab. 4.2). Zu der Auswirkung der Betain-Supplementation auf den Hcy-Turnover in gesunden Probanden existieren nur wenige Publikationen, für Hyperhomocysteinämie-Patienten noch weniger: Storch et al [12] führte eine Stoffwechselumsatzmessung mittels stabilen Isotopen markiertem Methionin bei Probanden mit und ohne eine Supplementation von je 4 g Betain über 5 Tage durch. Am Ende der Untersuchungsperiode wurde in der Betaingruppe ein Anstieg der Transmethylierungsrate unter Betain-Einnahme um 56% berechnet. Diese Daten entsprechen den Ergebnissen dieser Untersuchung. Die Steigerung der Transmethylierung unter Supplementation von Betain erklärt sich durch die erhöhte Bereitstellung von Methylgruppen und damit steigender Hcy-Synthese.

Storch et al beschreibt weiter, dass die Betain-induzierte Stimulation der Transmethylierung in einem simultanen Anstieg der Rate der Methionin-Oxidation um circa 30% der exogenen Methionin-Zufuhr (5 $\mu\text{mol/kg}\cdot\text{Std}$) resultiert. Die Gesamte Rate der Methionin-Oxidation von 15 $\mu\text{mol/kg}\cdot\text{Std}$ entspricht exakt der Gesamtmenge des exogen zugeführten Methionins im postprandialem Zustand. Daraus ergibt sich, dass die Betain-Supplementation zu einer Depletion des Körpers an Methionin führt, da die Methionin-Oxidation auch in der Fastenperiode weiterläuft, obgleich mit einer niedrigeren Rate. Dieser Mangel müsste durch eine erhöhte Zufuhr von exogenem Methionin gedeckt werden.

Betain stimuliert Remethylierung und Transsulfurierung von Homocystein. Neben dem signifikanten Anstieg der Transmethylierungsrate beschreibt Storch et al [12] eine Steigerung der Transsulfurierungs- und Remethylierungsrate um 107%. Die vorliegenden Daten zeigen ähnlich einen Anstieg der Homocystein-Degradation ($K_{\text{out}} = \text{TS} + \text{RM}$) um 112 % (Tab. 4.2). Daraus lässt sich schließen, dass Betain den gesamten tHcy-Turnover erhöht. Dies wird durch den geringeren Methionin-Anstieg unter kontinuierlicher Betain-Supplementation bestätigt.

Tab. 4.2: Vergleich der vorliegenden Daten mit den von Storch et al; Betain-Effekt auf die Kinetik des Methylgruppen-Stoffwechsel (TM = Transmethylierung, RM = Remethylierung und TS = Transsulfurierung. K_{in} entspricht der Transmethylierungskonstante und K_{out} der gemeinsamen Konstante für Remethylierung und Transsulfurierung).

	Storch et al			Brauer et al	
	TM [$\mu\text{mol/kg}\cdot\text{Std}$]	RM [$\mu\text{mol/kg}\cdot\text{Std}$]	TS [$\mu\text{mol/kg}\cdot\text{Std}$]	K_{in} [1/Std]	K_{out} [1/Std]
Vor Betain	18 \pm 1	7 \pm 0,6	11 \pm 0,9	Gruppe I 0,05 \pm 0,01	0,33 \pm 0,03
Mit Betain	28 \pm 3	12 \pm 3	15 \pm 0,8	Gruppe III 0,08 \pm 0,01	0,70 \pm 0,04
Differenz	10	5	4	0,03	0,37
Δ [%]	56	71	36	60	112

4.3.4 Einfluss des Enzymdefektes auf die Pharmakokinetik

Die **Verteilungs-Clearance** (CL_D) ist unabhängig von dem zugrunde liegendem Enzymdefekt und wird alleine durch die kumulative Betain-Dosis bestimmt. Die Verteilung erfolgt mittels eines membranständigen Transporters, der unabhängig von SAM funktioniert und unter Betain-Dauerbehandlung eine Sättigung zeigt. Das **Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments** V_2 vergrößert sich von Pyridoxin-responsivem CBS- zu MTHFR- zu Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel. Dies bedeutet, dass sich V_2 mit steigendem tHcy-Spiegel vergrößert. Da eine signifikante negative Korrelation zwischen tHcy C_{t_0} und Betain C_{t_0} nachgewiesen wurde, akkumuliert Betain weniger stark bei entleertem Betain-Pool.

SAM hat einen inhibitorischen Effekt auf die Enzyme BHMT- und DMG DH.

Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel weisen eine nur halb so schnelle **Metabolisierungs-Clearance** (CL_M) auf als Patienten mit einem MTHFR- oder Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel. Dies bestätigt die in-vitro Daten, dass hohe SAM-Konzentrationen einen inhibitorischen Effekt auf die BHMT-Reaktion haben. Auch die **DMG-Metabolisierung** (CL_E) wird durch hohe SAM-Konzentrationen gehemmt. So zeigen Patienten mit einem MTHFR-Defekt eine mehr als doppelt so schnelle CL_E als CBS-Patienten. Dabei war kein Unterschied zwischen Pyridoxin-responsiven und Pyridoxin-non-responsiven Patienten nachweisbar. Das **Verteilungsvolumen des Eliminations-Kompartiments** bestätigt den inhibitorischen Effekt von SAM auf DMG DH. DMG akkumuliert am stärksten in Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel und am geringsten in MTHFR-Patienten. Das **Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments** V_1 zeigt hingegen keinen Unterschied zwischen letzt genannten Enzymdefekten. Patienten mit Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel weisen die stärkste Betain-Akkumulation im Plasma auf, so dass nicht SAM, sondern eher die Höhe der Betain-Plasma-Konzentration, bzw. das Ausmaß der Betain-Depletion die Größe von V_1 determiniert. In Patienten mit einem MTHFR-Mangel ist CL_M , CL_E sowie V_1 - V_3 höher als in CBS-Patienten. Auch dies kann damit erklärt werden, dass hohe SAM-Konzentrationen einen inhibitorischen Effekt auf BHMT und DMG DH haben, jedoch die Verteilungs-Clearance unbeeinflusst lassen.

DMG-DH-Defekte als mögliche Ursache exzessiver Akkumulation von DMG im Plasma

Wie bereits oben gezeigt weisen einigen Patienten (AH, YN1, YN2, LJ1, LJ2) auffallend langsame DMG-Metabolisierungen auf. Alle diese Patienten sind Pyridoxin-non-responsiv oder partiell non-responsiv, so dass neben dem Einfluss der Tagesdosis und dem damit akkumulierenden DMG weitere Ursachen denkbar wären. Theoretisch könnte eine insuffiziente Aktivität der Methyltransferase oder der S-Adenoyl-Homocysteinase und das damit akkumulierende SAM über einen verstärkten inhibitorischer Effekt die verlangsamte CL_E erklären. Da SAM und SAH in der vorliegenden Untersuchung nicht bestimmt wurde, kann dies nicht ausgeschlossen werden.

Entgegen der bisherigen Darstellung zeigt sich eine signifikante positive Korrelation zwischen Methionin Ct_0 ($r = 0,57$, $P = 0,021$) und CL_E sowie V_3 ($r = 0,62$, $P = 0,011$). Damit wären hohe Methionin- und damit SAM-Konzentrationen mit einer beschleunigten DMG-Metabolisierung und einer geringerer Akkumulation von DMG verbunden. Daher muss es weitere Mechanismen geben, die V_3 und CL_E beeinflussen. So korreliert auch tHcy Ct_0 signifikant negativ mit V_3 ($r = -0,57$, $P = 0,023$). Da Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel die höchsten tHcy t_0 -Werte aufweisen, könnte dieser Zusammenhang möglicherweise die langsame CL_E und das kleine V_3 von Pyridoxin-non-responsiven Patienten erklären.

Das Verteilungsvolumen des zentralen und peripheren Kompartiments ist am kleinsten in der Gruppe der Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten. Sie weisen die stärkste Akkumulation von Betain im Plasma und Gewebe auf.

K_{out} spiegelt die Schwere der Deregulation des Methylgruppen-Stoffwechsels durch einen Enzymblock wider. Die tHcy-Elimination (K_{out}) ist in Patienten mit einem Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel erwartungsgemäß am höchsten. Aufgrund der nachweisbaren CBS-Restaktivität sowie relativ normalen SAM-Konzentrationen ist der Methylgruppen-Stoffwechsel in diesen Patienten am geringsten gestört. K_{out} ist nur halb so hoch bei fehlender Pyridoxin-Responsivität. Bei fehlender Pyridoxin-Responsivität liegt einerseits keine CBS-Restaktivität vor, andererseits findet sich in diesen Patienten ein Anstieg der SAM-Konzentration, die aufgrund ihrer inhibitorischen Wirkung auf multiple Transmethylierungsreaktionen zu einer weiteren Deregulation im Methylgruppen-Stoffwechsel führt. Das bedeutet, dass neben einem vollständigen Block der Transsulfurierung eine eingeschränkte MS- und BHMT-Remethylierung vorliegt. Daraus ergibt sich der geringe Wert für K_{out} . Patienten mit einem MTHFR-Mangel weisen normale oder subnormale SAM-Konzentrationen auf, d.h. neben dem Block der Folat-abhängigen Remethylierung findet sich eher eine Stimulation der Betain-abhängigen Remethylierung und eine fehlende Aktivierung der Transsulfurierung, woraus sich die moderate Höhe von K_{out} ergibt.

4.4 Analyse der pharmakodynamischen Daten

4.4.1 Betain-Effekt auf die Methionin-Plasma-Konzentration – Rohdatenanalyse

Alle Patienten, d.h. sowohl MTHFR- als auch CBS-Patienten, zeigen unter der erstmaligen Einnahme von Betain nach durchschnittlich 6,0 Std einen deutlichen Anstieg der Methionin-Konzentration im Plasma um 23,6 $\mu\text{mol/L}$, bzw. 187,8 % des initialen Wertes. Dahingegen ist unter Steady-State-Bedingungen mit 5,9 $\mu\text{mol/L}$, bzw. 107,7 % ein deutlich geringerer Methionin-Anstieg, der zusätzlich bereits nach 2,1 Std eintritt, zu beobachten. Der absolute und prozentuale Betain-assoziierte Methionin-Anstieg nach Betain-Pause entspricht denen der unbehandelten Patienten (51,5 $\mu\text{mol/L}$, 198,9 %). Dabei sei darauf hingewiesen, dass diese geringe Methionin-Differenz in der Steady-State-Gruppe auf einen Betain-assoziierten Abfall der Methionin-Plasma-Konzentration zurückzuführen ist, der bisher nicht zufriedenstellend erklärt werden kann. Wahrscheinlich resultiert auch er aus einer negativen Feedback-Reaktion. Der Zusammenhang zwischen Patientengruppe, Methionin C_{max} , Methionin t_{max} und Δ -Methionin erreicht statistische Signifikanz. Unter Betain-Dauertherapie zeigen sich aufgrund der Sättigung der Betain-vermittelten Remethylierung ausschließlich leichte und kurzfristige Betain-assoziierte Schwankungen der Methionin-Plasma-Konzentration. Dabei werden ähnliche Schwankungen nach relativ Methionin-reichen Mahlzeiten während des Untersuchungszeitraums beobachtet.

Auch zeigt sich ein enger Zusammenhang zwischen Enzymdefekt und Ausmass des Methionin-Anstiegs unter Betain-Einnahme. In Pyridoxin-non-responsiven CBS-Patienten steigt die Methionin-Plasma-Konzentration unter Betain-Einnahme trotz bereits bestehender Hypermethioninämie weiter an (92,4 $\mu\text{mol/L}$, 116,5 %). Dabei ist das Ausmass des Anstiegs deutlich geringer als in MTHFR-

Patienten (14,2 $\mu\text{mol/L}$, 325,4%), aber auch als bei vorliegender Pyridoxin-Responsivität (13,1 $\mu\text{mol/L}$, 141,4 $\mu\text{mol/L}$). Je höher Methionin Ct_0 , desto geringer ist der prozentuale Betain-induzierte Methionin-Anstieg ($r = 0,60$, $P = 0,003$). Diese Unterschiede erklären sich durch die inhibitorischen Wirkung hoher bzw. unter Betain-Einnahme steigender SAM-Plasma-Konzentrationen auf die Remethylierungs-Reaktionen.

Die CBS-Patientin mit partieller Pyridoxin-Responsivität zeigte im Vergleich zu den anderen CBS-Patienten einen außergewöhnlich starken Anstieg der Methionin-Konzentration (54,1 $\mu\text{mol/L}$, 198,9 %) bei nur leichter Hyperhomocysteinämie (55,2 $\mu\text{mol/L}$). Diese Beobachtung ist sicherlich in Zusammenhang mit der speziellen Mutation sowie der ausgeprägten Akkumulation von DMG im Plasma zu werten. Theoretisch wäre mit steigender DMG-Konzentration eine Zunahme des inhibitorischen Effekt von DMG auf die BHMT im Sinne eines negativen Feedbacks zu erwarten.

4.4.2 Betain-Effekt auf die Serin-Plasma-Konzentration – Rohdatenanalyse

Die Serin-Plasma-Konzentration zum Zeitpunkt t_0 ist in unbehandelten Patienten (113,0 $\mu\text{mol/L}$, 93,2-126,8 $\mu\text{mol/L}$) niedriger als in Patienten unter dauerhafter, ununterbrochener Betain-Therapie (130,8 $\mu\text{mol/L}$, 127,0-154,8 $\mu\text{mol/L}$). In Patienten, die ihre Betain-Therapie 7-10 Tage vor Studienteilnahme unterbrochen haben, liegt die Serin-Plasma-Konzentration zwischen erstgenannten Werten.

Alle Patienten zeigen unter erstmaliger Betain-Einnahme einen deutlichen Anstieg der Serin-Plasma-Konzentration um 137,2% (37,6 $\mu\text{mol/L}$ Gruppe I), bzw. 148,2% (58,2 $\mu\text{mol/L}$ Gruppe II) des initialen Wertes. Im Vergleich dazu fällt der Betain-assoziierte Anstieg der Serin-Plasma-Konzentration unter Steady-State-Bedingungen mit 108,2% (10,7 $\mu\text{mol/L}$) deutlich geringer aus. Diese Beobachtung ist wahrscheinlich nicht nur direkt auf eine Drosselung der Folat-abhängigen Remethylierung und damit einen geringeren Serin-Verbrauch in der Synthese des Cofaktors 5-Methyl-THF zurückzuführen. Vielmehr wird die Serinbildung auch durch den Betain-Abbau über DMG und Sarcosin begünstigt, so dass unter Betain-Supplementierung mehr Serin anfällt.

Wie bereits oben erwähnt, ist Serin Ct_0 in CBS-Patienten, insbesondere bei fehlender Pyridoxin-Responsivität, im Vergleich zum Normalkollektiv und zu den MTHFR-Patienten reduziert (106,8 $\mu\text{mol/L}$ vs. 149,3 $\mu\text{mol/L}$). Hohe initiale Methionin-Plasma-Konzentrationen sind assoziiert mit niedrigen Serin Ct_0 ($r = -0,49$, $P = 0,078$). Auch der signifikante Zusammenhang zwischen Δ -Serin und Δ -Methionin ($r = 0,64$, $P = 0,013$) bestätigt, dass der Betain-assoziierte Anstieg der Serin-Konzentration bestimmt wird durch die Rate der Folat-abhängigen Remethylierung. Darüber hinaus steigt Serin unter Betain-Supplementation um so stärker, je niedriger Serin Ct_0 ist.

Die vorliegenden Daten bestätigen die Ergebnisse der Untersuchung von Orendac et al [56], die einen Anstieg der Serin-Plasma-Konzentration in unbehandelten CBS-Patienten von 81 $\mu\text{mol/L}$ auf 103

$\mu\text{mol/L}$ (69 – 111 $\mu\text{mol/L}$) unter Behandlung (Diät, Pyridoxin, Cystin, Betain, Folsäure und Cobalamin) beschrieben. Dudman et al beschrieb in Übereinstimmung Serin-Werte von $91 \pm 18 \mu\text{mol/L}$ in 16 CBS-Patienten, die sich unter Betain-Therapie normalisierten [63].

Interessanterweise zeigt die Patientin mit partieller Pyridoxin-responsivität und starker DMG-Akkumulation im Plasma den höchsten Serin-Anstieg (0,9 $\mu\text{mol/L}$, 160,1%) unter Betain-Supplementation. Dies bestätigt die Vermutung, dass Serin aus dem Abbau von Betain stammt.

4.4.3 Betain-Effekt auf die Sarcosin-Plasma-Konzentration – Rohdatenanalyse

Ohne kontinuierliche Betain-Therapie (Gruppe I und II) liegt die Sarcosin-Plasma-Konzentration zum Zeitpunkt t_0 unterhalb der Nachweisgrenze, wohingegen Sarcosin C_{t_0} unter Betain-Dauertherapie 36,9 $\mu\text{mol/L}$ beträgt. Unter Betain-Einnahme akkumuliert Sarcosin wie auch Betain und DMG im Plasma, wodurch die Sarcosin-Spitzenpiegel unter Dauertherapie signifikant höher sind als ohne vorherige Betain-Einnahme (37,3 $\mu\text{mol/L}$ vs. 16,5 $\mu\text{mol/L}$). Unter Steady-State-Bedingungen wird der Sarcosin-Spitzenpiegel mehr als doppelt so schnell erreicht (3,2 Std) als in Gruppe I und II (7,5 Std). Das Ausmass des Betain-assoziierten Sarcosin-Anstieg reduziert sich von 330 % in unbehandelten Patienten auf 114 % unter Betain-Dauertherapie. Die Vergleichbarkeit des Betain-Effektes auf Sarcosin und Methionin ergibt sich dadurch, dass beide Metabolite Produkte der BHMT-Reaktion sind und bestätigt die Qualität der Daten.

Entsprechend DMG C_{t_0} ist Sarcosin C_{t_0} am niedrigsten in Patienten mit einem Remethylierungsdefekt (5,0 $\mu\text{mol/L}$) und am höchsten in Pyridoxin-non-responsiven Patienten (25,9 $\mu\text{mol/L}$). Der absolute und prozentuale Betain-assoziierte Sarcosin-Anstieg ist in Patienten mit einem Pyridoxin-non- (12,7 $\mu\text{mol/L}$) oder partiell-responsivem CBS-Mangel (21,7 $\mu\text{mol/L}$) höher als in Pyridoxin-responsiven CBS- (10,7 $\mu\text{mol/L}$) oder MTHFR-Patienten (10,2 $\mu\text{mol/L}$). Je höher Methionin C_{t_0} und Δ -Methionin, desto ausgeprägter ist der Sarcosin-Anstieg ($r = 0,51$, $P = 0,038$ und $r = 0,49$, $P = 0,045$). Diese Zusammenhänge ergeben sich aus der aktivierten BHMT-vermittelten Remethylierung unter Betain-Supplementation in CBS-Patienten. Dabei ist die Aktivierung um so stärker, je geringer die Pyridoxin-Responsivität ist.

Die Patientin mit partieller Pyridoxin-Responsivität weist entsprechend der starken Akkumulation von DMG eine verstärkte Akkumulation von Sarcosin auf bis zu 21,7 $\mu\text{mol/L}$ (291,8%) auf.

4.4.4 Homocystein-senkender Effekt von Betain – Rohdatenanalyse

Die vorliegenden Daten beweisen den tHcy-senkenden Effekt von Betain.

Unbehandelte Patienten zeigten signifikant höhere tHcy-Spiegel (209,2 $\mu\text{mol/L}$) als Patienten unter kontinuierlicher Betain-Therapie (106,9 $\mu\text{mol/L}$) ($P = 0,034$). Nach 7-10 tägiger Unterbrechung der

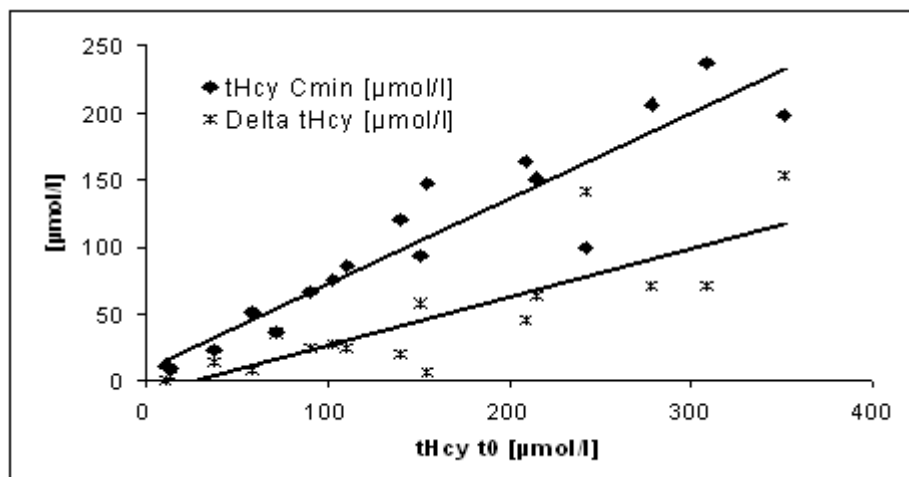
Betain-Einnahme sind die tHcy-Konzentrationen nur gering niedriger als in unbehandelten Patienten. Dieser rasche Wiederanstieg des tHcy-Spiegels nach Absetzen der Betain-Therapie geht mit einem raschen Abfall der Betain-Plasma-Konzentration einher. Betain C_{t_0} korreliert signifikant positiv mit tHcy C_{t_0} ($r = -0,57$, $P = 0,006$).

In der Patientengruppe I und II ist bereits 5-15 Minuten nach der initialen Betain-Einnahme eine Senkung des tHcy-Spiegels zu verzeichnen. Dabei ist in diesen Gruppen eine Reduktion der pathologisch erhöhten tHcy-Spiegel um 39 %, bzw. 27 % des Initialwertes zu verzeichnen. Dahingegen ist unter Steady-State-Bedingungen nur eine geringe und kurzfristige Betain-assoziierte tHcy-Senkung um 18 % zu beobachten. Olthof et al beobachteten in ihrer Untersuchung des tHcy-senkenden Effektes von Betain (1,5g, 3, und 6g pro Tag) in gesunden, erwachsenen Probanden eine dosisabhängige Reduktion der tHcy-Nüchtern-Spiegel von 12%, 15% und 20% [31]. Steenge et al erzielten in 12 gesunden, erwachsenen Probanden mit der Supplementation von 6 g Betain und 800 µg Folat eine Reduktion um 11% (1,8 µmol/L) [29]. Daneben untersuchten die erwähnten Arbeiten auch den Betain-Effekt auf den tHcy-Anstieg nach standardisierter Methionin-Belastung [29, 76, 77]. Dieser Test wird oft zur Abgrenzung von milden und moderaten Hyperhomocysteinämien im Rahmen internistischer Erkrankungen wie z. B. der chronischen Niereninsuffizienz und kardiovaskulärer Krankheitsbilder eingesetzt. In gesunden, erwachsenen Probanden führten Betain-Dosen zwischen 1,5 und 6 g täglich zu einer dosis-abhängigen Reduktion der tHcy-Konzentration nach Methionin-Belastung um maximal 40% [29, 31]. Insgesamt war die tHcy-Senkung durch Betain-Supplementation in gesunden Probanden deutlich geringer ausgeprägt als in unseren Homocystinurie- Patienten. Ein vergleichbarer tHcy-senkende Effekt von Betain wurde im Tierversuch mittels MTHFR-knock-out-Mäusen nachgewiesen. Im Rahmen einer Dosis-Wirkungsstudie wurde mit ansteigenden Betain-Dosen von 0 bis 6,4 g / kg KG eine maximale Hcy-Senkung um 40% des Ausgangswertes erzielt. Eine Steigerung der Betain-Dosis über 53 mg/kg KG pro Tag erzielte keinen weiteren Effekt. [65]. In ergänzenden Versuchen fielen die Hcy-Konzentrationen unter der Supplementation mit 350 mg Betain /kg KG und Tag in heterozygoten CBS-knock-out-Mäusen um 48,8% [66], und in MTHFR-knock-out-Mäusen mit 53 mg Betain / kg KG und Tag um 40% des Ausgangswertes [65].

Das Ausmaß des Homocystein-senkenden Effektes von Betain wird durch die Höhe der initialen tHcy-Konzentration bestimmt. tHcy C_{t_0} korrelierte hoch signifikant positiv mit tHcy C_{min} ($r = 0,93$, $P = 0,000$) und dem maximal erreichbaren tHcy-senkenden Effekt (Δ -Hcy) ($r = 0,86$, $P = 0,000$) (Abb. 4.1). Je ausgeprägter die Hyperhomocysteinämie, desto stärker wird die BHMT-vermittelte Remethylierung durch das erhöhte Substratangebot aktiviert. Wahrscheinlich aufgrund der Sättigung der Enzymkapazität wird innerhalb des Beobachtungszeitraums keine schnellere tHcy-Reduktion erzielt. So beträgt Hcy C_{min} in unbehandelten Patienten 151,2 µmol/L, bzw. 96,5 µmol/L in Gruppe II, und unter Betain-Dauertherapie 80,7 µmol/L ($r = - 0,61$, $P = 0,009$). Dies bestätigt die Daten aus vergleichbaren Untersuchungen in gesunden, erwachsenen Probanden [29,31].

Im Gegensatz zu Olthof et al [31] zeigt sich in der vorliegenden Arbeit das Ausmaß der tHcy-Senkung dosisunabhängig. Dies wird weiter unten durch die Simulation verschiedener Dosis-Regimes noch verdeutlicht.

Abb. 4.1 : tHcy-senkender Effekt von Betain



Auch unter Betain-Einnahme wird keine Normalisierung der tHcy-Plasma-Konzentrationen erreicht. Obwohl alle Patienten nach Einnahme von Betain eine deutliche Senkung des tHcy-Spiegels aufweisen, gelingt die Kompensation der funktionellen Störung durch die Betain-Gabe nur unvollständig in Patienten mit Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel und bei Remethylierungsdefekten. Die tHcy-Plasma-Konzentration bleibt auch unter Therapie weiterhin um das 5 bis 10 fache über die Norm (über 70-100 µmol/L) erhöht [23, 24, 26, 56, 71, 78, 79]. In vergleichbaren Tierversuchen verblieben die plasmatischen Hcy-Konzentrationen auch unter maximaler Betain-Supplementation oberhalb der Normwerte [64-66]. Warum sich keine Normalisierung erzielen lässt, ist bisher nicht bekannt. Die Therapie mit Betain ist theoretisch nicht unproblematisch. Ausschließlich der erste Schritt der Demethylierung von Betain zu DMG erfolgt kofaktorunabhängig. Die weitere oxidative Abspaltung von Einkohlenstoffeinheiten von DMG zu Sarcosin und Glycin benötigt Tetrahydrofolat als Akzeptor und führt zur Bildung von 5,10-Methylen-THF. Letztgenanntes akkumuliert ohne hin bereits bei Vorliegen eines MTHFR-Mangels, wodurch der funktionelle Mangel an THF noch verstärkt wird [74, 75]. Außerdem hemmt DMG mit einer Inhibitionskonstante K_i von 10 µmol/L in vitro bereits in geringen Konzentrationen effektiv die BHMT [25]. Aus diesen Überlegungen heraus ist zu erwarten, dass ein Sättigungseffekt bei der medikamentösen Therapie mit Betain eintritt.

Jedoch wird allgemein angenommen, dass bereits eine Senkung der tHcy-Konzentration unter einen Wert von 100 µmol/L, der so genannten kritischen Schwelle, mit einer dramatischen Reduktion der kardiovaskulären Komplikationen assoziiert ist [11]. Da ein Anstieg der tHcy-Konzentration um 5 µmol/L bereits mit einem Anstieg des kardiovaskulären Mortalitätsrisikos um 50% einhergeht [5], besteht im Vergleich zur Normalbevölkerung wahrscheinlich dennoch ein deutlich gesteigertes Risiko.

Auch andere Autoren beschreiben eine ausbleibende Normalisierung pathologisch erhöhter tHcy-Spiegel in Patienten mit schwerer Homocysteinämie.

Unter Steady-State-Bedingungen weist ausschließlich eine Patientin (LJ) mit Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel eine Normalisierung der zuvor pathologisch erhöhten tHcy-Werte auf. Dabei sei darauf hingewiesen, dass diese Patientin bereits vor dauerhafter Betain-Einnahme nur eine moderate Hyperhomocysteinämie aufwies. Diese Patientin hatte trotz ausgeschöpfter Therapie mit Pyridoxin immer noch Homocystein Spiegel um 70 $\mu\text{mol/L}$. Nach einer einmaligen Einnahme von Betain zeigte sich eine deutliche Senkung, so dass eine dauerhafte Behandlung mit Betain begonnen wurde. Diese Patientin nahm nach 2 Wochen und 16 Wochen dauerhafter Betain-Einnahme erneut an der Studie teil. Es war eine Normalisierung der tHcy-Spiegel (11 $\mu\text{mol/L}$) zu verzeichnen, der mit einem Anstieg der Betain-, DMG- und Sarcosin-Konzentrationen assoziiert war.

4.4.5 Homocystein-senkender Effekt von Betain - „Indirect response“ Modell

Vorweg sei angemerkt, dass die Rohdaten-Analyse einen wesentlich ausgeprägteren Hcy-senkenden Effekt zeigt als das „Indirect response“ Modell.

Der tHcy-senkende Effekt von Betain ist am höchsten in zuvor unbehandelten Patienten. Der tHcy-senkende Effekt von Betain wurde durch das „indirect response“ Modell dargestellt, das zusätzlich an das von uns verwendete Zwei-Kompartiment-Modells angepasst wurde. Es basiert auf dem zeitlichen Verlauf der tHcy-Plasma-Konzentrationen unter Betain-Verabreichung. Der absolute (0,37 o.D.) und der prozentuale (155,5 %) maximale tHcy-senkende Effekt (E_{MAX}) von Betain ist am höchsten in zuvor unbehandelten Patienten ($P = 0,055$ und $P = 0,045$). Der prozentuale tHcy-senkende Effekt von Betain liegt in Gruppe II und III rund 20% niedriger. Dies spricht wiederum für eine Stimulation der Betain-Metabolisierung in unbehandelten Patienten, wahrscheinlich verursacht durch die Hyperhomocysteinämie. EC_{50} , d.h. die Betain-Konzentration, die einen halb-maximalen tHcy-senkenden Effekt hervorruft, zeigt eine leicht steigende Tendenz von Gruppe I (0,09 o.D.) zu Gruppe III (0,11 o.D.) ohne statistische Signifikanz zu erreichen.

Der tHcy-senkende Effekt von Betain ist in CBS-Patienten höher als in MTHFR-Patienten. Patienten mit einem MTHFR-Mangel weisen die niedrigsten absoluten (0,16 o.D.) und prozentualen (137,1 %) Hcy-senkenden Effekt von Betain auf, wohingegen CBS-Patienten einen deutlich höheren Betain-Effekt zeigen (0,26 o.D., 169,8 %). Mit steigender Höhe der initialen Methionin-Konzentration steigt E_{MAX} % an ($r = 0,675$, $P = 0,004$). Ebenfalls gehen tHcy Ct_0 Werte über 200 $\mu\text{mol/L}$ mit einem deutlichen Anstieg von E_{MAX} % einher. Daraus ergibt sich die Vermutung, dass wie bereits oben schon gezeigt die Höhe der tHcy-Plasma-Konzentration den tHcy-senkenden Effekt von Betain bestimmt. Daher lässt sich schlussfolgern, dass der therapeutische Einsatz von Betain in CBS-Patienten effektiver ist als in MTHFR-Patienten. Der Enzymdefekt zeigte im Gegensatz zu EC_{50} /Dosis keinen

eindeutigen Einfluss auf EC_{50} . Der dosiskorrigierte EC_{50} -Wert war am höchsten in der Gruppe der Pyridoxin-responsiven CBS-Patienten (0,220 09 o.D.), gefolgt von den MTHFR-Patienten (0,123 o.D.). Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangel wiesen die niedrigsten EC_{50} /Dosis-Werte auf (0,051 1/L). Dabei waren diese Unterschied mit $P = 0,050$ grenzwertig signifikant.

Oben beschriebene Unterschiede erklären sich durch die Höhe der tHcy-Konzentrationen bei den verschiedenen Enzymdefekten. EC_{50} /Dosis ist am höchsten bei tHcy Ct_0 Werten $< 100 \mu\text{mol/L}$ und fällt mit steigendem tHcy Ct_0 ab. Mit steigender DMG Ct_0 steigt EC_{50} /Dosis an ($r = 0,57$, $P = 0,021$). Die Höhe der initialen Betain-Konzentration hatte keinerlei Einfluss auf die Pharmakodynamik.

Zusätzlich zeigte sich ein deutlicher Einfluss der Höhe der initialen Methionin-Konzentration auf EC_{50} /Dosis ($P = 0,008$). Methionin-Werte $< 100 \mu\text{mol/L}$ waren mit einem signifikant höheren EC_{50} /Dosis-Wert assoziiert als Methionin-Werte über $300 \mu\text{mol/L}$, wie sie bei Patienten mit einem Pyridoxin-non-responsiven CBS-Mangel beobachtet werden ($P = 0,002$). Kein signifikanter Unterschied zeigte sich zwischen Methionin-Werten von kleiner $20 \mu\text{mol/L}$ und Werten zwischen 20 und $100 \mu\text{mol/L}$.

4.4.6 Prädiktives Modell

In unbehandelten Patienten würde sich tHcy unter einer theoretischen Betain-Plasma-Konzentration von 0 mmol/l auf $152 \mu\text{mol/L}$ einpendeln, während nach Betain-Pause ($111 \mu\text{mol/L}$) und unter Betain-Dauertherapie ($112 \mu\text{mol/L}$) deutlich niedrigere tHcy-Werte vorlägen. Gleichartig verhielte sich tHcy unter der theoretischen Annahme einer kontinuierlich hohen Betain-Plasma-Konzentration von 1 mmol/l . tHcy würde sich in unbehandelte Patienten auf $133 \mu\text{mol/L}$, nach Betain-Pause auf $98 \mu\text{mol/L}$ und unter Steady-State-Bedingungen auf $93 \mu\text{mol/L}$ einstellen. Damit wäre das sich einstellende tHcy-Niveau in unbehandelten Patienten sowohl ohne als auch mit optimaler Betain-Plasma-Konzentration am höchsten. Dies entspricht den oben aufgeführten Rohdaten und bestätigt die Korrelation zwischen tHcy Ct_0 und tHcy C_{min} ($r = 0,96$, $P = 0,000$). Der tHcy-Abfall, d.h. die Differenz zwischen Hcy $C=0$ und Hcy $C=1$, wird durch $\Delta\text{-Hcy}_{\text{Modell}}$ angegeben und zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Behandlungsgruppen. Er betrug in Gruppe I $19 \mu\text{mol/L}$, in Gruppe II $12 \mu\text{mol/L}$ und in Gruppe III $19 \pm 7 \mu\text{mol/L}$. Der Stimulus-Effekt von Betain auf die Hcy-senkende Wirkung war in Gruppe I mit $1,330 \text{ o.D.}$ höher als in Gruppe II ($1,133 \text{ o.D.}$) und III ($1,206 2 \text{ o.D.}$), die Unterschiede erreichten ebenfalls keine statistische Signifikanz. Unter Heranziehen der Rohdaten zeigte sich, dass diese theoretischen Werte deutlich unter den tatsächlich beobachteten Betain-induzierten tHcy-Abfällen liegen. Unter der theoretischen Annahme des Fehlens jeglichen Betain-Einflusses ist die Höhe des sich einstellenden Homocystein-Spiegels vergleichbar mit den gemessenen initialen Homocystein-Konzentrationen in den einzelnen Enzymdefekten. In der Gruppe der Pyridoxin-non-responsiven Patienten würde sich mit einem Werte von $210 \mu\text{mol/L}$ das höchste Niveau einstellen, gefolgt von der Gruppe der MTHFR-Patienten mit $111 7 \mu\text{mol/L}$. Patienten mit einer Pyridoxin-responsiven Form des CBS-Mangels wiesen auch unter gegebenen Bedingungen signifikant niedrigere Homocystein-Spiegel

auf. Die sich unter optimalen Therapiebedingungen (konstante Betain-Spiegel von 1 mmol/l) einstellende Homocystein-Konzentration verhielt sich entsprechend. Je höher Hcy C = 0, desto höher war auch Hcy C = 1. Pyridoxin-non-responsive Patienten zeigen die stärkste tHcy-Senkung ($19 \pm 28 \mu\text{mol/L}$), gefolgt von Pyridoxin-responsiven Patienten ($16 \mu\text{mol/L}$) und MTHFR-Patienten ($12 \mu\text{mol/L}$). Die Stimulusfunktion des kontinuierlich hohen Betain-Spiegels S (C = 1) war in der Gruppe der CBS-Patienten mit 1206 höher als in der der MTHFR-Patienten (1140 o.D.). Im Gegensatz dazu zeigt sich eine signifikante negative Korrelation zwischen Methionin C_{t_0} und Betain-Stimulus ($r = -0,547$, $P = 0,028$). Eine Induktion der BHMT-Aktivität durch vermehrte Genexpression wird erleichtert bei geringen Methionin-Konzentrationen [44]. Es konnte gezeigt werden, dass SAM die BHMT-Aktivität inhibiert. In der Leber von CBS-Patienten sind erhöhte Methionin und SAM-Konzentrationen unter Betain-Supplementation zu erwarten, die möglicherweise zur Repression der der BHMT-Expression führen können. Daraus ergäbe sich für CBS-Patienten niedrige Stimuluseffekte von Betain und hohe Effekte in MTHFR-Patienten, was unseren oben aufgeführten Beobachtungen widerspräche.

4.4.7 Simulation verschiedener Dosisfrequenzen

Die Simulation verschiedener Dosisfrequenzen bestätigt einen ausschließlich geringen Benefit der Steigerung der Dosisfrequenz, insbesondere vor dem Hintergrund der damit verbundenen Reduktion der Einnahme-Compliance und der zusätzlich entstehenden Kosten. Die Simulation wurde erneut für die verschiedenen Behandlungsgruppen durchgeführt. In der Gruppe der unbehandelten Patienten war die Steigerung der Applikationsfrequenz von einer täglichen auf vier tägliche Gaben ausschließlich einen zusätzlichen tHcy-Senkung von $6 \mu\text{mol/L}$, bzw. 6 %. Nach Betain-Pause verkleinerte sich der Benefit bereits auf $2 \mu\text{mol/L}$, bzw. 1,8 % und unter Steady-State-Bedingungen war kein Effekt nachweisbar. Daraus ergibt sich in unbehandelten Patienten ein minimaler Benefit durch Steigerung der Applikationsfrequenz, wohingegen in beiden anderen Gruppen fast kein Unterschied nachvollziehbar ist. Zwei tägliche Dosen á 50 mg Betain / kg erscheinen die optimale Applikationsfrequenz und Dosis zu sein. Auch im Tierversuch erzielte im Rahmen einer Dosis-Wirkungsstudie eine Steigerung der Betain-Dosis über 53 mg/kg KG pro Tag keinen weiteren Effekt [65].

4.5 Geschlechtsspezifische pharmakokinetische und pharmakodynamische Unterschiede

Die Analyse geschlechtsspezifischer pharmakokinetischer Unterschiede zeigt, dass bei männlichen Patienten ungeachtet des Alters und des Enzymdefektes die Metabolisierungs-, die Verteilungs- und die Eliminations-Clearance höher sind als bei weiblichen Patienten. Dieser Unterschied zeigt sich sowohl innerhalb von Behandlungsgruppe I und II, als auch bei Betrachtung des gesamten Patientenkollektivs. Statistische Signifikanz wird nicht erreicht. Entsprechend der höheren

Metabolisierungs-Clearance findet sich bei unbehandelten Männern eine doppelt so hoher Hcy-senkende Effekt von Betain (E_{MAX}) wie bei unbehandelten Frauen. In der Gruppe II mit Betain-Einnahmepause ist dieser Unterschied nicht nachweisbar. Gruppe III war zu klein, um eine Analyse durchzuführen. EC_{50} und $EC_{50}/Dosis$ ist sowohl in Gruppe I als auch in Gruppe II in weiblichen Patienten höher als in männlichen. Die Verteilungsvolumina sowie die Konstanten der tHcy-Entstehung und -Abbaus (K_{in} und K_{out}) zeigen keine durchgängigen geschlechtsspezifischen Unterschiede.

Schwahn et al erklären entsprechende Ergebnisse im Tierversuch mit den unterschiedlichen metabolischen Anforderungen und Enzymaktivitäten in männlichen und weiblichen Mäusen. Männliches Geschlecht und MTHFR-Mangel sind dort mit einer größeren Sensitivität für einen Cholin-Mangel und Betain-Supplementation assoziiert [64]. Aber auch hormonelle Einflüsse auf den Methylgruppen-Stoffwechsel sind bekannt. So konnten Park und Garrow eine Bindungsstelle für Steroidhormone im BHMT-Gen nachweisen [44].

Es konnte keinerlei Einfluss des Lebensalters auf die Pharmakodynamik nachgewiesen werden.

4.6 Zusammenhang zwischen Therapiephase bzw. Tagesdosis und Pharmakokinetik und Pharmakodynamik

Einige Patienten wurden mehrmals unter veränderten Bedingungen (Dosisfrequenz oder Behandlungsgruppe) untersucht. Exemplarisch sind hier die Patienten LJ und BN aufgeführt. Anhand der Patientin BN mit dem Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel wurde der Einfluss der Behandlungsphase auf die PK/PD untersucht. Sie erhielt sowohl bei der erstmaligen Betain-Einnahme (Gruppe I) als auch 2 und 16 Wochen nach Einführung einer dauerhaften Betain-Therapie eine Testdosis von 50 mg Betain kg KG und Tag.

Betain Ct_0 , DMG Ct_0 , Sarcosin Ct_0 und Serin Ct_0 steigen von der ersten zur dritten Untersuchung an, während tHcy Ct_0 bereits 2 Wochen nach Einführung der Betain-Dauertherapie in den Normalbereich gesenkt werden konnte. Im Gegensatz zu anderen Patienten war keine ausgeprägte plasmatische Betain-Depletion nachweisbar. Dies steht sicherlich mit der nur milden Hyperhomocysteinämie und damit nur leicht oder gar nicht stimulierten Betain-abhängigen Remethylierung in Zusammenhang.

Betain und seine Metabolite DMG und Sarcosin akkumulierten im Plasma, wobei sich das Ausmass der Akkumulation mit steigender kumulativer Betain-Dosis erhöhte. Während Serin als Zeichen der gesteigerten Folat-abhängigen Remethylierung anstieg, fiel die Methionin-Plasma-Konzentration trotz der Annahme einer gesteigerten Remethylierung leicht ab. Des weiteren zeigt sich eine signifikante Reduktion von CL_D , CL_M , CL_E , unter Steady-State-Bedingungen auf 36%, 25 % bzw. 63 % des Ausgangswertes. Entsprechend verhielten sich die Verteilungsvolumina V1-V3. Dieser Abfall kann wie bereits oben aufgeführt als Sättigung der beteiligten Reaktionen, vollständige Auffüllung zuvor

entleerter hepatischen Betain-Pools und Ausgleich der Hyperhomocysteinämie verstanden werden. Während sich die Transmethylierungs-Konstante unter Steady-State-Bedingungen halbiert, d.h. weniger tHcy durch den Methylgruppen-Zyklus fließt, steigt die Konstante des tHcy-Abbau via Transsulfurierung und Remethylierung um fast 300%. Die absolute Halbwertszeit von Betain reduziert sich nur um 18% unter Steady-State-Bedingungen. EC_{50} und EC_{50}/Dosis ändern sich unter Steady-State-Bedingungen nicht, jedoch reduziert sich wie bereits oben gezeigt der maximale tHcy-senkende Effekt von Betain unter Dauertherapie von 221 auf 126%. Dies war assoziiert mit einem ausschließlich sehr geringen Betain-induziertem tHcy-Abfall von $3 \mu\text{mol/L}$.

Im Gegensatz dazu wurde bei Patientin LJ mit dem partiell Pyridoxin-responsivem CBS-Mangel bei konstanter Behandlungsphase (jeweils Betain-Einnahme-Pause von 7 Tagen vor Untersuchung) die Tagesdosis von $1 \times 50 \text{ mg Betain / kg KG}$ auf $4 \times 50 \text{ mg Betain / kg KG}$ gesteigert. Während kein Unterschied zwischen Betain Ct_0 nachweisbar ist, liegt vor der zweiten Betain-Belastung DMG Ct_0 deutlich und Sarcosin Ct_0 und Methionin Ct_0 gering höher als vor der ersten. Dies ist assoziiert mit einem Abfall von tHcy Ct_0 . Diese Beobachtung wird mit einer Zunahme der Compliance bezüglich der Betain-Einnahme nach der ersten Studienteilnahme erklärt, die auch durch die Patientin bestätigt wird. Das bedeutet, dass die kontinuierlichere Einnahme von Betain und der damit erhöhten kumulativen Dosis mit einer verstärkten Akkumulation der Metabolite DMG und Sarcosin und einem höheren tHcy-senkendem Effekt einhergeht. Während Betain aufgrund der engen zeitlichen Abhängigkeit zwischen Betain-Einnahme und Betain-Plasma-Konzentration nicht als Verlaufsparemeter geeignet ist, beweist eine hohe DMG-Konzentration eine kontinuierliche Betain-Einnahme. Die plasmatische DMG-Akkumulation hält weitaus länger an als die von Betain. Der Abfall von Serin Ct_0 vor erneuter Betain-Belastung spricht auch für eine gesteigerte Folat-abhängige Remethylierung, die wiederholt auf die zuverlässigere Betain-Einnahme vor der zweiten Studienteilnahme schließen lässt. CL_M , CL_D und $V1$ halbieren sich unter Dosissteigerung, während sich CL_E um $1/3$ reduziert wird. Die Dosissteigerung ist mit einer früheren Sättigung der BHMT-, bzw. DMG DH-Reaktion und einem raschen Auffüllen des hepatischen Betain-Pools und danach verlangsamten Verteilung assoziiert. Daher akkumulieren Betain und DMG verstärkt im Plasma. Die angenommenen Compliance-Steigerung und die damit einhergehenden Erhöhung der kumulativen Betain-Dosis trägt darüber hinaus zur Sättigung der beteiligten Reaktionen bei. Daraus ergibt sich auch der deutliche Anstieg der Halbwertszeit von Betain.

In fast allen Patienten mit einer dauerhaften Betain-Therapie zeigt sich, dass DMG und besonders Sarcosin nach Erreichen einer Schwellen-Konzentration im Plasma nicht weiter anstiegen. Daraus leitet sich das konstante Verteilungsvolumen $V3$ ab. Sowohl K_{in} als auch K_{out} zeigten sich bei der zweiten Betain-Belastung deutlich reduziert. Ersteres würde bedeuten, dass durch die Dosissteigerung die Transmethylierung gedrosselt wäre und damit weniger tHcy anfällt. Zweites könnte als Ausdruck einer gesteigerten Hcy-Elimination durch Remethylierung und möglicherweise auch Transsulfurierung gedeutet werden.

Während bereits mit einer Einzelgabe von 50 mg Betain / kg KG ein tHcy-Abfall um 71,4 $\mu\text{mol/L}$ erzielt wird, beträgt der tHcy-Abfall unter Vervielfachung der Dosis 74,5 $\mu\text{mol/L}$. Die pharmakodynamischen Parameter zeigen jedoch eine Steigerung des maximalen Betain-Effektes [%], wohingegen die absolute tHcy-Reduktion und damit E_{MAX} abs. stark abfielen. Diese Tatsache spiegelt erneut wieder, dass eine Steigerung der Applikationsfrequenz und der Tagesdosis zu keiner zusätzlichen tHcy-Senkung führt und aus klinischer Erfahrung eher zu einer Abnahme der Compliance bezüglich der Medikamenten-Einnahme, insbesondere, da Betain einen unangenehmen Geschmack hat und aufgrund des hohen Volumens nicht als Kapsel oder Tablette angeboten werden kann. Nicht zu vergessen ist die Kosten-Nutzen Relation. Mit Dosissteigerung steigt der finanzielle Aufwand für die Therapie deutlich ohne einen Benefit zu verzeichnen.

4.7 Renale Exkretion von Betain und DMG

In der vorliegenden Arbeit wurde nur in Patientin LJ die renale Exkretion von Betain und DMG nach oraler Einnahme von 4 x 50 mg Betain / kg Körpergewicht (4 x 38,86 mmol) untersucht. Dabei wurde ausschließlich Spontanurin und nicht die 24-Stunden-Exkretion von Betain und DMG analysiert.

Die vorliegenden Daten zeigen, dass die renale Exkretion von Betain und DMG stark abhängig ist von der Plasma-Konzentration der beiden Metabolite. Die Konzentrationen im Urin verlaufen zeitlich parallel zu den Plasma-Konzentrationen. Betain C_{max} und DMG C_{max} werden sowohl im Plasma als auch im Urin nach circa 1 Stunde erreicht. Die fraktionelle Exkretion von Betain vor Betain-Einnahme beträgt 0,49 % und erreicht circa 1 Stunde nach Betain-Einnahme ein Maximum von 2,75 %. Mit jeder weiteren Einnahme von Betain steigt FE_{Betain} sukzessiv an, wobei sie circa 3-4 Stunden nach der vorangegangenen Betain-Einnahme auf den Ausgangswert zurückfällt. Die fraktionelle Exkretion von DMG vor Betain-Einnahme ist mit 3,70 % deutlich höher als die von Betain und erreicht nach circa 1 Stunde ein Maximum von 21 %. Im Gegensatz zu FE_{Betain} fällt FE_{DMG} zwischen den Betain-Einnahmen nicht bis auf den Ausgangswert zurück. Die fraktionelle Exkretion von Betain und DMG korrelieren signifikant positiv miteinander ($r = 0,57$). Betain und DMG akkumulieren sowohl in Plasma als auch im Urin, dort jedoch in einem geringeren Umfang. Erwähnenswert ist, dass die DMG-Plasma-Konzentration im Gegensatz zur DMG-Konzentration im Urin oder der Betain-Konzentration in Urin und Plasma unter wiederholter Betain-Einnahme kontinuierlich steigt.

Untersuchungen in gesunden Männern zeigten eine fraktionelle Exkretion von Betain von weniger als 6% [25, 55, 56] bzw. eine Exkretion von 4,0% der eingenommenen Betain-Dosis im 24-Stunden-Sammelurin [21, 52]. Dabei wurde Betain in zwei Einzeldosen im Abstand von 8-12 Stunden in entsprechender Dosierung verabreicht, woraus sich erklärt, dass die Exkretion nicht auf Werte über 4,0% anstieg. Des weiteren wurden im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit keine seriellen Urinproben analysiert, womit die raschen Änderungen der fraktionellen Exkretion nach Betain-Einnahme nicht erfasst werden konnten. Die vorliegenden Daten zeigen erstmalig den Zusammenhang zwischen

FE_{Betain} und FE_{DMG} sowie den entsprechenden Plasma-Konzentrationen. Die renale Exkretion von Betain und DMG steigt deutlich unter Betain-Einnahme an, wobei die Konzentrationen im Plasma hoch signifikant positiv mit den Konzentrationen im Urin korrelieren.

Betain akkumuliert normalerweise im Nierenmark [30, 32]. Seine Abgabe in den Urin steigt stark nach Wasser-Diurese [33]. Es gibt Beweise dafür, dass die Plasma-Konzentration unter homöostatischer Kontrolle und die renale Exkretion von Betain daher eine starke Variabilität aufweist. Die Expression des Betain-Transporters (BGT1) wird direkt durch die Tonizität der Intrazellulärflüssigkeit reguliert [70]. Dadurch verursachen eine unterschiedliche Aufnahme von Wasser und Salzen während des Untersuchungszeitraumes eine Variabilität der Eliminationskinetik. Andere Untersuchungen zeigen jedoch, dass die Betain-Plasma-Konzentration gut kontrolliert wird und daher nicht beeinflusst wird durch akute Diurese oder Antidiurese [55].

Die Patientin LJ ist Trägerin einer bisher einzigartigen Mutation innerhalb der regulatorischen Domäne des CBS-Genes und wurde in der Literatur als partiell-pyridoxin-responsiv beschrieben [51]. Unter der Einnahme von 4 x 50 mg Betain / kg Körpergewicht zeigt sie eine außergewöhnlich starke Akkumulation von DMG im Plasma bis auf 352 $\mu\text{mol/L}$ bei ausschließlich moderat gesteigerter Akkumulation von Sarcosin. Dies führen wir auf eine möglicherweise gestörte Elimination von DMG mittels DMG DH zurück [82]. Auch Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ist die DMG-Plasma-Konzentration auf das zwei- bis dreifache erhöht. Die DMG-Plasma-Konzentration steigt zunehmend mit abnehmender Nierenfunktion, während die Betain-Plasma-Konzentration unbeeinträchtigt bleibt. Die fraktionierte Exkretion von Betain steigt um das zehnfache und FE_{DMG} verdoppelt sich [81].

4.8 Vergleich der vorliegenden Daten mit bereits publizierten Daten

Betain wird in der Literatur für die Behandlung sowohl der klassischen Homocystinurie wie auch der Remethylierungsdefekt empfohlen [23, 24, 26]. In der Therapie des CBS-Mangels wird eine durchschnittliche Senkung der Hcy-Konzentration zwischen 74 und 92% durch die Einnahme einer täglichen Betain-Dosis von 6 – 20 g erreicht [23]. Dennoch konnten einige Studien keinen klinischen Benefit durch 6 g Betain täglich nachweisen. Trotz der weitverbreiteten Anwendung von Betain in der Behandlung der verschiedenen Formen der Hyperhomocysteinämie besteht kein eindeutiger Konsensus über die optimale Dosis und Dosisfrequenz. Fallberichte beschrieben die Verwendung von Dosen zwischen 150 und 250 mg / kg x Tag oder eine Standard-Dosis von 2-3 g täglich für Kinder und 5 – 20 g täglich für Erwachsene, die gewöhnlich in zwei bis drei Einzeldosen verabreicht wurden [23, 24, 26]. 2002 publizierte Matthews et al [71] eine Untersuchung zur PK/PD von Betain in fünf Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel. Keiner der Patienten der Matthews Studie hat jemals zuvor Betain eingenommen. Somit entsprechen sie der Gruppe I der vorliegenden Untersuchung. Es folgte ausschließlich die Verabreichung einer Einzeldosis in Höhe von 50 mg Betain / kg KG. Freundlicherweise wurden uns die Originaldaten dieser Gruppe zur Verfügung gestellt. Wir

überführten diese in unser Modell und verglichen Sie mit den vorliegenden Ergebnissen (Tab. 4.3). Allgemein lässt sich sagen, dass die Daten, abgesehen von einigen kleinen Abweichungen gut übereinstimmen. Dadurch bestätigt sich die Qualität des verwendeten Modells.

Tab. 4.3: Pharmakokinetische Daten der vorliegenden Untersuchung im Vergleich zu Matthew et al

		Matthews et al	Vorliegende Untersuchung	
			Gruppe I	CBS
K ₀₁	[1/L]	0,90 (0,52-0,90)	1,26 (1,21-1,35)	1,00 (0,87-1,27)
T _{lag}		0,26 (0,23-0,90)	0,20 (0,02-0,32)	0,22 (0,17-0,30)
CL _D	[1/Std]	0,07 (0,07-0,16)	0,19 (0,15-0,22)	0,18 (0,12-0,22)
CL _M	[1/Std]	0,09 (0,08-0,17)	0,12 (0,11-0,27)	0,07 (0,03-0,10)
V ₁	[L]	0,32 (0,19-0,39)	0,39 (0,35-0,41)	0,24 (0,17-0,29)
V ₂	[L]	1,91 (1,52-2,72)	1,15 (0,99-1,41)	1,67 (0,81-2,30)
K _{in}	[1/L]	0,04 (0,04-0,04)	0,05 (0,02-0,08)	0,08 (0,04-0,09)
K _{out}	[1/L]	0,24 (0,18-0,26)	0,33 (0,32-0,43)	0,33 (0,19-0,64)

Schwahn et al führten die erste größere Studie zur Pharmakokinetik von Betain in 12 männlichen, gesunden Probanden durch [52]. Die Studie umfasste drei Phasen. Die erste Phase untersuchte die Betain-Kinetik nach erstmaliger Einnahme einer Betain-Einzeldosis von 50 mg / kg. Diese Phase ist mit den Patienten der Behandlungsgruppe I, welche einmalig 50 mg / kg Betain erhielten, vergleichbar. In der zweiten Phase erhielten die Probanden nach einer Pause der Betain-Einnahme von 7 – 14 Tagen für den Zeitraum von 5 Tagen eine Betain-Dosis von 50 mg / kg alle 12 Stunden. Entsprechend der Patientengruppe II. Die dritte Phase schloss sich unmittelbar an die zweite an und untersuchte die Pharmakokinetik der Betain-Einzelgabe unter so genannten Steady-State-Bedingungen (Patientengruppe III). Die Rohdaten der Probandenstudie wurden in unser Modell eingefügt und die pharmakokinetischen Daten mit denen der vorliegenden Untersuchung verglichen. Dies ermöglicht die Differenzierung zwischen Effekten, die durch die Betain-Therapie alleine verursacht werden und denen, die sich aus der Deregulation des Methylgruppen-Stoffwechsels ergeben.

Tab. 4.4: Betain-Konzentration [$\mu\text{mol/L}$] der Probanden- und der Patientenstudie im Vergleich, angegeben als Mittelwert \pm SD

	Gruppe I Betain-Erstgabe	Gruppe II Betain-Pause	Gruppe III Steady-State
Probanden	32 \pm 6	34 \pm 9	nicht bestimmt
Patienten	16 \pm 8	28 \pm 23	910 \pm 534

Die **Betain-Konzentration** im Plasma in der Probandenstudie beträgt vor der erstmaligen Betain-Einnahme $32 \pm 6 \mu\text{mol/L}$ (Mittelwert \pm SD) und nach der darauf folgenden Pause von 7 – 14 Tagen $34 \pm 9 \mu\text{mol/L}$ (Tab. 4.1). Damit liegt die Betain-Konzentration der Probanden vor der erstmaligen Betain-Einnahme signifikant höher als der entsprechenden Patientengruppe I. Dies weist auf eine Aktivierung der Betain-abhängige Remethylierung in unbehandelten Patienten durch pathologisch erhöhte tHcy-Spiegel hin. Diese resultiert in einer plasmatischen und wahrscheinlich auch hepatischen Betain-Depletion, wie sie sich in unseren Patienten findet. Die plasmatische Betain-Konzentrationen der Patientengruppe II variiert stark und zeigt keinen signifikanten Unterschied zu denen der Probanden in der zweiten Studienphase.

Die **Absorptions-Konstante** (K_{01}) von Betain aus dem Gastrointestinaltrakt verlangsamt sich sowohl in Patienten als auch in Probanden leicht unter Betain-Dauertherapie. Dies bestätigt die Hypothese, dass die Betain-Aufnahme unter Dauertherapie gesättigt ist.

Die **Metabolisierungs-Clearance** (CL_M) von Betain ist in unbehandelten Patienten circa 1/3 höher als in entsprechenden Probanden, während unter Steady-State-Bedingungen fast kein Unterschied zwischen Patienten und Probanden nachweisbar ist. Die gesteigerte Metabolisierungsrate in unbehandelten Patienten bestätigt die Hypothese einer gesteigerten Betain-abhängigen Remethylierung unter stark erhöhten tHcy-Spiegeln und Betain-Depletion. Unter Steady-State-Bedingungen ist die BHMT-Reaktion gesättigt und die Betain-Depletion ausgeglichen. Daher ist kein Unterschied zwischen Patienten und Probanden mehr nachweisbar. Zusätzlich kann eine inhibitorische Feed-back Wirkung des unter Dauertherapie stark erhöhten DMG die Verlangsamung in Probanden und Patienten erklären. Von größerer Bedeutung scheint jedoch der Ausgleich der Betain-Depletion zu sein.

Das **Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments** (V_1) ist in unbehandelten Patienten 56% größer als in entsprechenden Probanden. In Patienten reduziert sich V_1 unter Betain-Dauertherapie um 44%, während in Probanden keine Änderung nachweisbar ist. Damit ist V_1 unabhängig von der kumulativen Betain-Dosis und der inhibitorische Effekt von DMG scheint eher gering ausgeprägt zu sein. Nach Ausgleich der Betain-Depletion gleicht sich V_1 der Patienten dem der Probanden an und Betain akkumuliert stärker im Plasma. Wahrscheinlich trägt auch die Reduktion der Hyperhomocysteinämie zu einer Abnahme der Betain-abhängigen Remethylierung bei, da weniger Substrat zur Verfügung steht.

Die **Verteilungs-Clearance** (CL_D) von Betain halbiert sich sowohl in Patienten als auch in Probanden unter dauerhafter Betain-Einnahme, wohingegen kein Unterschied zwischen Probanden und Patienten nachweisbar ist. Dies spricht für eine Sättigung der Verteilungsmechanismen, die unabhängig von einem hypothetisierten Ausgleich hepatischer Betain-Depletionen ist. Darüber hinaus scheint damit ein Einfluss der Konzentrationen von tHcy, bzw. SAH und Methionin, bzw. SAM auf die Verteilungs-

Clearance ausgeschlossen. Alleine die kumulative Betain-Dosis beeinflusst die Geschwindigkeit von CL_D .

Das **Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments (V_2)** ist in unbehandelten Patienten 6fach größer als in entsprechenden Probanden. Dies spricht für eine exzessive Aufnahme von Betain ins Gewebe, wobei bereits Patienten eine hohe Aufnahme von Betain ins Gewebe zeigen. Das kleinere V_2 der unbehandelten Probanden erklärt sich durch eine raschere Akkumulation bei bereits aufgefülltem Betain-Pool. Unter Steady-State-Bedingungen reduziert sich V_2 in Patienten um 63%, was ebenfalls mit dem Ausgleich der hepatischen Betain-Depletion erklärt werden kann. Im Gegensatz dazu vergrößert sich V_2 in Probanden unter Dauertherapie um das 8fache. Der Grund ist leider ungeklärt. Theoretisch wäre eine überdurchschnittliche Stimulation der Betain-Transporter mit rascherer Umverteilung von Betain denkbar.

Tab. 4.5: Pharmakokinetische Daten der Probanden- und Patientenstudie im Vergleich

		Ohne Betain		Betain-Dauertherapie	
		Probanden I	Patienten I	Probanden III	Patienten III
K01	[1/Std]	1,08 (0,86-1,83)	1,26 (1,21-1,35)	0,77 (0,66-0,93)	0,98 (0,83-1,52)
CL_D	[1/Std]	0,20 (0,16-0,28)	0,19 (0,15-0,22)	0,09 (0,08-0,11)	0,10 (0,08-0,13)
CL_M	[1/Std]	0,08 (0,07-0,09)	0,12 (0,11-0,27)	0,06 (0,05-0,06)	0,05 (0,03-0,06)
CL_E	[1/Std]	0,17 (0,08-0,23)	0,68 (0,46-3,21)	0,93 (0,80-1,26)	0,29 (0,22-0,49)
V_1	[L]	1,19 (0,85-1,44)	0,39 (0,35-0,41)	0,16 (0,14-0,19)	0,22 (0,22-0,26)
V_2	[L]	12,80 (12,61-13,6)	1,15 (0,99-1,41)	1,60 (1,39-1,89)	0,43 (0,36-0,66)
V_3	[L]	0,23 (0,22-0,30)	3,99 (2,77-5,01)	15,04 (12,99-17,13)	2,33 (1,79-3,21)

Die Rate der **DMG-Metabolisierung (CL_E)** ist in Patienten, sowohl unbehandelten als auch in denen unter Steady-State-Bedingungen, im Vergleich zu entsprechenden Probanden verlangsamt. In beiden Gruppen reduziert sie sich weiter unter Steady-State-Bedingungen, in Patienten um 57% und in Probanden um 18%. Dies erklärt sich am ehesten durch Sättigung der limitierten Kapazität der DMG DH im Sinne eines negativen Feed-backs. Die in unbehandelten Patienten erhöhte tHcy- und SAH-Konzentration trägt zu einer weiteren Inhibition bei, wodurch sich der Unterschied zwischen unbehandelten Patienten und entsprechenden Probanden erklärt. Die dramatische Verlangsamung der CL_E in Patienten könnte möglicherweise durch den gesteigerten Methionin-Umsatz unter Betain-Einnahme verursacht sein. Dieser resultiert über einen Anstieg von SAM in einer Inhibition von BHMT und DMG DH-Reaktion. Schwahn et al untersuchte nicht den Einfluss der Betain-Einnahme auf u. a. Methionin, so dass hier keine vergleichenden Aussagen gemacht werden können. Jedoch wurde bereits oben der inhibitorische Effekt hoher SAM-Konzentrationen in CBS-Patienten auf die DMG-Metabolisierung gezeigt. Theoretisch weisen Probanden keinen Methionin-, bzw. SAM-Mangel auf, warum das unter Betain-Einnahme vermehrt anfallende Methionin via Transsulfurierung von tHcy entfernt werden könnte.

Das **Verteilungsvolumen des Eliminations-Kompartiments (V3)** ist in unbehandelten Probanden und Probanden unter Betain-Dauertherapie um ein mehrfaches höher als in entsprechenden Patienten. Dies spricht für eine beschleunigte Metabolisierung von DMG zu Sarcosin in Probanden, möglicherweise durch den fehlenden inhibitorischen Effekt von SAH (und SAM) auf die DMG DH-Reaktion. In Probanden steigt V3 gering unter Dauertherapie, während in Patienten eine Reduktion nachweisbar ist. In Patienten könnte dies wieder auf die Reduktion von SAH zurück geführt werden.

4.9 Schwächen des Studiendesign und der Auswertung

Sowohl die Studien-Durchführung als auch das Modell, insbesondere das „indirect response“ Modell, weisen mehrere Schwächen auf. Aufgrund der sehr niedrigen Prävalenz der Homocystinurie stand nur ein sehr kleines Patientenkollektiv für die Untersuchung zur Verfügung. Die kleine Fallzahl ermöglicht nur begrenzte statistische Aussagen.

Die Probensammlung war primär durch fehlende Compliance der Patienten bezüglich der Medikamenten-Einnahme vor Studienteilnahme, die zum Teil schwer ausgeprägte psychomotorische Retardierung der Patienten sowie durch allgemeine Probleme, die bei der Studien-Beteiligung von Kindern auftreten, erschwert. Die fehlende Einnahme-Regelmäßigkeit scheint in einem Teil der Patienten mit einer fehlenden Einsicht über die Komplikationen der Erkrankung und die Effektivität der Therapie einherzugehen.

Die Gruppen-Bildung warf ebenfalls mehrere Probleme auf. Einerseits überraschte, dass sowohl die initialen Metaboliten-Konzentrationen als auch die PK/PD-Daten deutliche Unterschiede zwischen Patientengruppe I und II aufwarfen. Das Studien-Design wurde unter Berücksichtigung der Ergebnisse der vorangegangenen Probanden-Studie entwickelt. Daraus ergab sich die Annahme, nach einer Betain-Einnahme Pause von mehr als 5 HWZ Tage sei ein mit der Ersteinnahme vergleichbarer Zustand erreicht. Erst im Rahmen der ersten Auswertungen zeigten sich die Problematik, so dass die betroffenen Patienten in eine weitere Gruppe, Gruppe II, zugeordnet werden mussten. Jedoch wies diese Tatsache auch neue Aspekte der Regulation des Methylgruppen-Stoffwechsels auf.

Die Gruppe der Patienten mit einer Störung der Cobalamin-Synthese oder des Cobalamin-Transportes (Cbl-Patienten) wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt, da für die Modell-Berechnung nicht ausreichend Daten zur Verfügung standen.

Das entwickelte Zwei-Kompartiment Modell zeigte sehr gute Übereinstimmung mit den erhobenen Rohdaten. Methionin wurde als weitere Komponente entfernt, nachdem sich herausstellte, dass es das Modell schwächt. Danach war das Modell sehr robust. Das integrierte „indirect response Model“ weist jedoch einige Einschränkungen auf. Der Homocystein-senkende Effekt von Betain ist im Modell deutlich geringer ausgeprägt als den Rohdaten entnommen werden konnte.

Dennoch liefert die vorliegende Arbeit mehrere neue, bisher nicht publizierte Ansätze sowohl bezüglich der Regulation des Methylgruppen-Stoffwechsels und der Interaktion der in ihm beteiligten Metabolite in Patienten mit Homocystinurien, als auch bezüglich der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Betain im Einsatz der schweren Hyperhomocysteinämien. Darüber hinaus bestätigen die vorliegenden Daten bereits publizierte Daten und Thesen.

5 SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK

Die vorliegende Arbeit belegt die schwerwiegenden Auswirkungen beim Ausfall eines der drei Homocystein metabolisierenden Stoffwechselwege mit konsekutiver Dysregulation des gesamten Systems. Die Effektivität der Betain-Behandlung resultiert nach den vorliegenden Daten primär aus dem Ausgleich der mit Hyperhomocysteinämie assoziierten Betain-Depletion und höchstens sekundär aus der Steigerung der Betain-Metabolisierung durch erhöhtes Substratangebot. Dies erklärt auch den rasch einsetzenden Sättigungseffekt und der fehlenden Effektivität einer Dosissteigerung unter Betain-Therapie.

Unter längerfristiger Therapie kommt es zur Akkumulation von Betain und zu einer Sättigung des Betain-Effektes ab einer Dosis von etwa 100 mg Betain / kg KG und Tag. Daraus lässt sich folgern, dass die starke Wirkung der Betain-Supplementation zu Beginn der Therapie auf einer Auffüllung entleerter Betain-Speicher beruht. Mit Erreichen von Konzentrationen im Sättigungsbereich der BHMT lässt sich eine geringere Wirkung nachweisen. Hieraus lässt sich ein therapeutischer Betain-Bedarf von 100 mg / kg Kg und Tag zur Aufrechterhaltung des Effektes ableiten [80].

In unbehandelten Patienten sind Verteilungs-, Metabolisierungs- und Eliminations-Clearance sowie die Absorptions-Parameter signifikant höher (50-100%) als unter Betain-Dauertherapie. Dies erklärt sich einerseits durch den inhibitorischen Effekt von DMG auf BHMT und von Sarcosin auf DMG DH, andererseits durch den Ausgleich der plasmatischen und hepatischen Betain-Depletion, sowie die Sättigung der duodenalen und hepatischen Betain-Aufnahme und die Sättigung limitierter Enzymkapazitäten und Steady-State-Bedingungen. Jedoch zeigen auch hohe tHcy-Spiegel einen aktivierenden Effekt auf Metabolisierung und Elimination. Unter dauerhafter Betain-Supplementation steigt nicht nur die Transmethylierungsrate, sondern auch die Transsulfurierungs- und Remethylierungsrate. Somit erhöht Betain den gesamten tHcy-Turnover.

SAM hat einen inhibitorischen Effekt auf die Enzyme BHMT und DMG DH. Patienten mit Pyridoxin-non-responsivem CBS-Mangel weisen ein nur halb so schnelle Metabolisierungs- und Eliminations-Clearance auf als Patienten mit Remethylierungsdefekt. Im Gegensatz dazu ist die Verteilungs-Clearance unabhängig von SAM. Die vorliegenden Daten liefern widersprüchliche Angaben darüber, ob Betain effektiver in der Behandlung von CBS- oder MTHFR-Patienten ist. Das Ausmaß des tHcy-senkenden Effektes von Betain wird primär determiniert durch tHcy t_0 und das Maß der Betain-

Depletion. Danach würden insbesondere CBS-non-responsive Patienten von dem therapeutischen Einsatz von Betain profitieren.

Männliche Patienten zeigen ungeachtet des Alters und des Enzymdefektes eine höhere Metabolisierungs-, Verteilungs- und Eliminations-Clearance. Diese geschlechtsspezifischen pharmakokinetische Unterschiede sind wahrscheinlich auf hormonelle Einflüsse und unterschiedliche metabolische Anforderungen und Enzymaktivitäten zurückzuführen.

Bisher ist noch ungeklärt, warum die Normalisierung des Betain- bzw. Cholinstoffwechsels und die Senkung der erhöhten tHcy-Konzentration durch Betain-Supplementation einen zum Teil dramatischen positiven klinischen Effekt zur Folge haben. Hier sind insbesondere vasculäre, neurologische, psychiatrische, renale und hepatische Krankheitsbilder zu nennen. Zur Untersuchung des Pathomechanismus der Betain- bzw. Cholin-Depletion müssen weitere Untersuchungen an transgenen Tieren und entsprechenden Zelllinien herangezogen werden. Ebenfalls sind weitere Untersuchungen zum Stellenwert einer adäquaten alimentären Betain/Cholin-Zufuhr notwendig. Bisher ist wenig über die Normalkonzentrationen von Betain, Cholin und DMG in pädiatrischen Kollektiven bekannt. Die neueren LC-MS/MS-Methoden erlauben eine schnelle Bestimmung bei kleinem Probenvolumen, wodurch die Ermittlung alterskorrigierter Normwerte vereinfacht wird.

6 LITERATUR

1. Jacobsen, D.W., Determinants of hyperhomocysteinemia: a matter of nature and nurture. *Am J Clin Nutr*, 1996. 64(4): p. 641-2.
2. Refsum, H., et al., Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem*, 2004. 50(1): p. 3-32.
3. Ueland, P.M., et al., Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem*, 1993. 39(9): p. 1764-79.
4. Jacobsen, D.W., et al., Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma: sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects. *Clin Chem*, 1994. 40(6): p. 873-81.
5. Vollset, S.E., et al., Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*, 2001. 74(1): p. 130-6.
6. Kang, S.S., P.W. Wong, and M.R. Malinow, Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr*, 1992. 12: p. 279-98.
7. Gulsen, M., et al., Elevated plasma homocysteine concentrations as a predictor of steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005. 20(9): p. 1448-55.
8. Blasco, C., et al., Prevalence and mechanisms of hyperhomocysteinemia in chronic alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*, 2005. 29(6): p. 1044-8.
9. Bostom, A.G. and B.F. Culleton, Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 1999. 10(4): p. 891-900.
10. McCully, K.S., Homocysteine and vascular disease. *Nat Med*, 1996. 2(4): p. 386-9.
11. Ueland, P.M. and H. Refsum, Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med*, 1989. 114(5): p. 473-501.
12. Storch, K.J., D.A. Wagner, and V.R. Young, Methionine kinetics in adult men: effects of dietary betaine on L-[2H3-methyl-1-13C]methionine. *Am J Clin Nutr*, 1991. 54(2): p. 386-94.

13. Mudd, S.H., M.H. Ebert, and C.R. Scriver, Labile methyl group balances in the human: the role of sarcosine. *Metabolism*, 1980. 29(8): p. 707-20.
14. Finkelstein, J.D., Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem*, 1990. 1(5): p. 228-37.
15. Reed, M.C., et al., A mathematical model of the methionine cycle. *J Theor Biol*, 2004. 226(1): p. 33-43.
16. Selhub, J. and J.W. Miller, The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr*, 1992. 55(1): p. 131-8.
17. Mudd, S.H., H.L. Levy, and F. Skovby, Disorders of Transsulfuration. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*, ed. B.A. Scriver CR, Sly WS und Valle D. Vol. 7. Auflage. 1995, New York: McGraw-Hill. Seite 3111-3128.
18. Wilcken, D.E. and B. Wilcken, The natural history of vascular disease in homocystinuria and the effects of treatment. *J Inherit Metab Dis*, 1997. 20(2): p. 295-300.
19. Rosenblatt, D.S., Inherited Disorders of Folate Transport and Metabolism. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*, ed. B.A. Scriver CR, Sly WS und Valle D. Vol. 7. Auflage. 1995, New York: McGraw-Hill. Seite 3111-3128.
20. Jacques, P.F., et al., Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation*, 1996. 93(1): p. 7-9.
21. Wald, D.S., M. Law, and J.K. Morris, Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *Bmj*, 2002. 325(7374): p. 1202.
22. Perry, T.L., et al., Treatment of homocystinuria with a low-methionine diet, supplemental cystine, and a methyl donor. *Lancet*, 1968. 2(7566): p. 474-8.
23. Wilcken, D.E., et al., Homocystinuria--the effects of betaine in the treatment of patients not responsive to pyridoxine. *N Engl J Med*, 1983. 309(8): p. 448-53.
24. Wendel, U. and H.J. Bremer, Betaine in the treatment of homocystinuria due to 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Eur J Pediatr*, 1984. 142(2): p. 147-50.

25. Allen, R.H., S.P. Stabler, and J. Lindenbaum, Serum betaine, N,N-dimethylglycine and N-methylglycine levels in patients with cobalamin and folate deficiency and related inborn errors of metabolism. *Metabolism*, 1993. 42(11): p. 1448-60.
26. Holme, E., B. Kjellman, and E. Ronge, Betaine for treatment of homocystinuria caused by methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Arch Dis Child*, 1989. 64(7): p. 1061-4.
27. van Guldener, C., et al., Effect of folic acid and betaine on fasting and postmethionine-loading plasma homocysteine and methionine levels in chronic haemodialysis patients. *J Intern Med*, 1999. 245(2): p. 175-83.
28. Alfthan, G., et al., The effect of low doses of betaine on plasma homocysteine in healthy volunteers. *Br J Nutr*, 2004. 92(4): p. 665-9.
29. Steenge, G.R., P. Verhoef, and M.B. Katan, Betaine supplementation lowers plasma homocysteine in healthy men and women. *J Nutr*, 2003. 133(5): p. 1291-5.
30. Brouwer, I.A., P. Verhoef, and R. Urgert, Betaine supplementation and plasma homocysteine in healthy volunteers. *Arch Intern Med*, 2000. 160(16): p. 2546-7.
31. Olthof, M.R., et al., Low dose betaine supplementation leads to immediate and long term lowering of plasma homocysteine in healthy men and women. *J Nutr*, 2003. 133(12): p. 4135-8.
32. Sizeland, P.C., et al., Organic osmolytes in human and other mammalian kidneys. *Kidney Int*, 1993. 43(2): p. 448-53.
33. Burg, M.B., Molecular basis of osmotic regulation. *Am J Physiol*, 1995. 268(6 Pt 2): p. F983-96.
34. Caldas, T., et al., Thermoprotection by glycine betaine and choline. *Microbiology*, 1999. 145 (Pt 9): p. 2543-8.
35. Chern, M.K. and R. Pietruszko, Evidence for mitochondrial localization of betaine aldehyde dehydrogenase in rat liver: purification, characterization, and comparison with human cytoplasmic E3 isozyme. *Biochem Cell Biol*, 1999. 77(3): p. 179-87.
36. Craig, S.A., Betaine in human nutrition. *Am J Clin Nutr*, 2004. 80(3): p. 539-49.
37. Laryea, M.D., et al., Simple method for the routine determination of betaine and N,N-dimethylglycine in blood and urine. *Clin Chem*, 1998. 44(9): p. 1937-41.

38. Holm, P.I., et al., Determination of choline, betaine, and dimethylglycine in plasma by a high-throughput method based on normal-phase chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem*, 2003. 49(2): p. 286-94.
39. Barak, A.J., H.C. Beckenhauer, and D.J. Tuma, S-adenosylmethionine generation and prevention of alcoholic fatty liver by betaine. *Alcohol*, 1994. 11(6): p. 501-3.
40. Brosnan, J.T., et al., Methylation demand: a key determinant of homocysteine metabolism. *Acta Biochim Pol*, 2004. 51(2): p. 405-13.
41. Abdelmalek, M.F., et al., Betaine, a promising new agent for patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study. *Am J Gastroenterol*, 2001. 96(9): p. 2711-7.
42. Millian, N.S. and T.A. Garrow, Human betaine-homocysteine methyltransferase is a zinc metalloenzyme. *Arch Biochem Biophys*, 1998. 356(1): p. 93-8.
43. Emmert, J.L., T.A. Garrow, and D.H. Baker, Hepatic betaine-homocysteine methyltransferase activity in the chicken is influenced by dietary intake of sulfur amino acids, choline and betaine. *J Nutr*, 1996. 126(8): p. 2050-8.
44. Park, E.I. and T.A. Garrow, Interaction between dietary methionine and methyl donor intake on rat liver betaine-homocysteine methyltransferase gene expression and organization of the human gene. *J Biol Chem*, 1999. 274(12): p. 7816-24.
45. Skiba, W.E., et al., Human hepatic methionine biosynthesis. Purification and characterization of betaine:homocysteine S-methyltransferase. *J Biol Chem*, 1982. 257(24): p. 14944-8.
46. Mar, M.H., et al., A method for the determination of betaine in tissues using high performance liquid chromatography. *J Nutr Biochem*, 1995. 6(7): p. 392-398.
47. Finkelstein, J.D., et al., Regulation of hepatic betaine-homocysteine methyltransferase by dietary betaine. *J Nutr*, 1983. 113(3): p. 519-21.
48. Miller, J.W., et al., Folate-deficiency-induced homocysteinaemia in rats: disruption of S-adenosylmethionine's co-ordinate regulation of homocysteine metabolism. *Biochem J*, 1994. 298 (Pt 2): p. 415-9.
49. Finkelstein, J.D. *Inherited Disorders of Sulphur Metabolism*, ed. R.D. Carson NA. 1971, London: Churchill Livingstone. Seite 1-13.

-
50. Garrow, T.A., Purification, kinetic properties, and cDNA cloning of mammalian betaine-homocysteine methyltransferase. *J Biol Chem*, 1996. 271(37): p. 22831-8.
51. Kluijtmans, L.A., et al., Defective cystathionine beta-synthase regulation by S-adenosylmethionine in a partially pyridoxine responsive homocystinuria patient. *J Clin Invest*, 1996. 98(2): p. 285-9.
52. Schwahn, B.C., et al., Pharmacokinetics of oral betaine in healthy subjects and patients with homocystinuria. *Br J Clin Pharmacol*, 2003. 55(1): p. 6-13.
53. Shipchandler, M.T. and E.G. Moore, Rapid, fully automated measurement of plasma homocyst(e)ine with the Abbott IMx analyzer. *Clin Chem*, 1995. 41(7): p. 991-4.
54. Moore, S. and W.H. Stein, A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J Biol Chem*, 1954. 211(2): p. 907-13.
55. Lever, M., et al., Glycine betaine and proline betaine in human blood and urine. *Biochim Biophys Acta*, 1994. 1200(3): p. 259-64.
56. Orendac, M., et al., Homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency: novel biochemical findings and treatment efficacy. *J Inherit Metab Dis*, 2003. 26(8): p. 761-73.
57. Bishop, R.E. and G.P. Tryfiates, Biosynthesis of a novel form of vitamin B-6 by tumor cells. *J Nutr*, 1989. 119(2): p. 189-95.
58. Davis, S.R., et al., Dietary vitamin B-6 restriction does not alter rates of homocysteine remethylation or synthesis in healthy young women and men. *Am J Clin Nutr*, 2005. 81(3): p. 648-55.
59. Lam, H.M. and M.E. Winkler, Metabolic relationships between pyridoxine (vitamin B6) and serine biosynthesis in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol*, 1990. 172(11): p. 6518-28.
60. Sun, L., et al., Crystal structure of the pyridoxal-5'-phosphate-dependent serine dehydratase from human liver. *Protein Sci*, 2005. 14(3): p. 791-8.
61. Cuskelly, G.J., et al., Deficiencies of folate and vitamin B(6) exert distinct effects on homocysteine, serine, and methionine kinetics. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001. 281(6): p. E1182-90.

-
62. Davis, S.R., et al., Tracer-derived total and folate-dependent homocysteine remethylation and synthesis rates in humans indicate that serine is the main one-carbon donor. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004. 286(2): p. E272-9.
63. Dudman, N.P., P.A. Tyrrell, and D.E. Wilcken, Homocysteinemia: depressed plasma serine levels. *Metabolism*, 1987. 36(2): p. 198-201.
64. Schwahn, B.C., et al., Homocysteine-betaine interactions in a murine model of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Faseb J*, 2003. 17(3): p. 512-4.
65. Schwahn, B.C., et al., Betaine rescue of an animal model with methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Biochem J*, 2004. 382(Pt 3): p. 831-40.
66. Schwahn, B.C., et al., Effects of betaine in a murine model of mild cystathionine-beta-synthase deficiency. *Metabolism*, 2004. 53(5): p. 594-9.
67. Mudd, S.H., et al., Isolated persistent hypermethioninemia. *Am J Hum Genet*, 1995. 57(4): p. 882-92.
68. Mudd, S.H., et al., Isolated hypermethioninemia: measurements of S-adenosylmethionine and choline. *Metabolism*, 2000. 49(12): p. 1542-7.
69. Kettunen, H., et al., Intestinal uptake of betaine in vitro and the distribution of methyl groups from betaine, choline, and methionine in the body of broiler chicks. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2001. 128(2): p. 269-78.
70. Miyakawa, H., et al., Identification of the second tonicity-responsive enhancer for the betaine transporter (BGT1) gene. *Biochim Biophys Acta*, 1999. 1446(3): p. 359-64.
71. Matthews, A., et al., An indirect response model of homocysteine suppression by betaine: optimising the dosage regimen of betaine in homocystinuria. *Br J Clin Pharmacol*, 2002. 54(2): p. 140-6.
72. da Costa, K.A., et al., Choline deficiency in mice and humans is associated with increased plasma homocysteine concentration after a methionine load. *Am J Clin Nutr*, 2005. 81(2): p. 440-4.
73. Finkelstein, J.D. and J.J. Martin, Methionine metabolism in mammals. Adaptation to methionine excess. *J Biol Chem*, 1986. 261(4): p. 1582-7.

-
74. Allen, R.H., et al., Metabolic abnormalities in cobalamin (vitamin B12) and folate deficiency. *Faseb J*, 1993. 7(14): p. 1344-53.
75. Krebs, H.A., R. Hems, and B. Tyler, The regulation of folate and methionine metabolism. *Biochem J*, 1976. 158(2): p. 341-53.
76. Schwab, U., et al., Orally administered betaine has an acute and dose-dependent effect on serum betaine and plasma homocysteine concentrations in healthy humans. *J Nutr*, 2006. 136(1): p. 34-8.
77. Wilcken, D.E., N.P. Dudman, and P.A. Tyrrell, Homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency--the effects of betaine treatment in pyridoxine-responsive patients. *Metabolism*, 1985. 34(12): p. 1115-21.
78. Sakura, N., et al., Betaine dose and treatment intervals in therapy for homocystinuria due to 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *J Inherit Metab Dis*, 1998. 21(1): p. 84-5.
79. Sakamoto, A. and N. Sakura, Limited effectiveness of betaine therapy for cystathionine beta synthase deficiency. *Pediatr Int*, 2003. 45(3): p. 333-8.
80. Balkenhol, N.D., et al., Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of oral betaine in patients with homocystinuria. *J Inherit Metab Dis*, 2003. 26(1): p. 19.
81. Mcgregor, D.O., et al., Dimethylglycine accumulates in uremia and predicts elevated plasma homocysteine concentrations. *Kidney Int*, 2001. 59(6): p. 2267-72
82. Moolenaar, S.H., et al., Defect in dimethylglycine dehydrogenase, a new inborn error of metabolism: NMR spectroscopy study. *Clin Chem*, 1999. 45(4): p. 459-64
83. Yaghai, R., et al., Progressive cerebral edema associated with high methionine levels and betaine therapy in a patient with cystathionine beta-synthase (CBS) deficiency. *Am J Med Genet*. 2002 Feb 15;108(1):57-63.
84. Devlin, A.M., et al., Cerebral edema associated with betaine treatment in classical homocystinuria. *J Pediatr*. 2004 Apr;144(4):545-8.

7 ANHANG

7.1 Tabellenanhang

Tab. 7.1 : Initiale Metaboliten-Konzentrationen der Patienten

Defekt	Gruppe	Initialien	Name	Betain t ₀	DMG t ₀	Sarcosin t ₀	tHcy t ₀	Methionin t ₀	Serin t ₀
CBS +	3	0	BN3	510,3	103,6	31,4	11,0	35,3	123,2
CBS +	1	7	BE	24,2	2,6	5,0	37,7	30,0	113,0
CBS +	3	16	BN2	196,9	57,0	20,9	13,9	33,9	130,8
CBS+	1	1	BN1	19,2	4,3	5,0	71,9	42,7	93,2
MTHFR	1	2	ZM	4,1	0,6	5,0	215,0	6,3	134,0
MTHFR	1	3	ZS	12,0	0,2	5,0	209,2	7,5	126,8
MTHFR	2	4	UM	67,4	5,5	5,0	59,0	14,3	119,4
MTHFR	3	6	UN	622,3	114,0	43,5	110,6	24,0	178,8
MTHFR	2	9	BF	41,8	9,0	5,0	90,9	15,2	164,6
MTHFR	2	10	BH	16,0	5,5	5,0	151,1	24,1	176,9
MTHFR	3	15	MC	534,2	97,1	5,0	140,2	11,0	n.d.
CBS +/-	2	11	LJ2	10,8	10,9	11,1	278,1	52,4	114,1
CBS +/-	2	5	LJ1	10,8	0,9	11,6	308,7	57,9	120,5
CBS -	1	8	LG	20,1	20,0	9,3	351,0	394,2	86,6
CBS -	3	12	YN2	249,9	196,5	42,4	155,0	1093,0	n.d.
CBS -	2	13	AH	19,0	62,3	5,0	242,0	1042,0	126,9
CBS -	3	14	YN1	601,0	143,6	42,6	103,2	1152,0	n.d.
Cbl	2	17	KH2	0,0	8,0	19,0	230,0	8,0	n.d.
Cbl	3	18	SB1	1510,8	36,7	n.d.	21,9	n.d.	n.d.
Cbl	3	19	SB2	1559,5	32,2	40,6	21,0	34,0	n.d.
Cbl	3	20	SB3	1756,9	45,4	23,1	n.d.	37,8	n.d.
Cbl	3	21	SC1	525,0	17,0	n.d.	10,2	n.d.	n.d.
Cbl	3	22	SC2	825,2	24,1	38,3	10,2	38,0	n.d.
Cbl	3	23	SC3	1008,0	37,7	16,3	n.d.	37,1	n.d.
Cbl	3	24	AS	289,8	22,7	8,9	45,7	24,7	n.d.
Cbl	3	25	HJ	304,0	43,0	12,8	79,7	20,7	n.d.

Tab. 7.2: Neuberechnete pharmakokinetische Daten von Matthews et al

Initialien	K01	CLD	CLM	V1	V2	tlag	Kin	Kout
201	0,90	0,16	0,09	0,32	1,52	0,18	0,11	0,26
202	0,97	0,07	0,06	0,19	0,45	0,26	0,04	0,18
203	0,52	0,02	0,17	0,39	2,72	0,90	0,03	0,24
204	0,90	0,26	0,19	0,56	1,91	0,23	0,04	0,15
205	0,42	0,07	0,08	0,06	7,94	0,93	0,04	0,46
Median	0,90	0,07	0,09	0,32	1,91	0,26	0,04	0,24
25. Q	0,52	0,07	0,08	0,19	1,52	0,23	0,04	0,18
75. Q	0,90	0,16	0,17	0,39	2,72	0,90	0,04	0,26

Tab. 7.3 : Pharmakokinetische Parameter der Patienten

Defekt	Gruppe	Patient	K01 [1/Std]	CL _D [L/Std]	CL _M [L/Std]	CL _E [L/Std]	V1 [L]	V2 [L]	V3 [L]	T _{lag} [Std]	k _{in} [1/Std]	k _{out} [1/Std]
CBS +	3	0	1,64	0,08	0,03	0,29	0,18	0,36	3,92	0,45	1,64	0,08
CBS +	1	1	1,35	0,22	0,12	0,46	0,41	0,99	5,06	0,47	1,35	0,22
CBS +	1	7	1,26	0,15	0,30	0,21	0,54	0,35	2,77	0,17	1,26	0,15
MTHFR	1	2	1,21	0,19	0,27	3,73	0,39	1,47	5,01	0,20	1,21	0,19
MTHFR	1	3	0,55	0,07	0,11	3,21	0,35	1,15	3,99	0,20	0,55	0,07
MTHFR	2	4	0,45	0,19	0,03	0,46	0,06	2,81	8,68	0,47	0,45	0,19
MTHFR	3	6	1,52	0,13	0,05	0,22	0,22	0,66	1,79	0,34	1,52	0,13
MTHFR	2	9	1,16	0,16	0,11	1,00	0,38	1,19	9,46	0,24	1,16	0,16
MTHFR	2	10	1,07	0,13	0,13	0,66	0,26	0,51	3,32	0,09	1,07	0,13
MTHFR	3	15	0,57	0,06	0,06	0,49	0,26	0,43	2,33	0,51	0,57	0,06
CBS +/-	2	5	2,12	0,19	0,10	0,09	0,16	0,61	1,45	0,24	2,12	0,19
CBS +/-	2	11	0,48	0,10	0,05	0,06	0,06	1,92	1,54	0,21	0,48	0,10
CBS -	1	8	1,35	0,23	0,10	0,68	0,26	1,41	2,04	0,32	1,35	0,23
CBS -	3	12	0,98	0,16	0,02	0,10	0,22	2,52	1,15	0,15	0,98	0,16
CBS -	2	13	1,01	0,25	0,01	0,05	0,30	2,43	1,18	0,03	1,01	0,25
CBS -	3	14	0,83	0,10	0,13	0,50	0,33	0,32	3,21	0,42	0,83	0,10

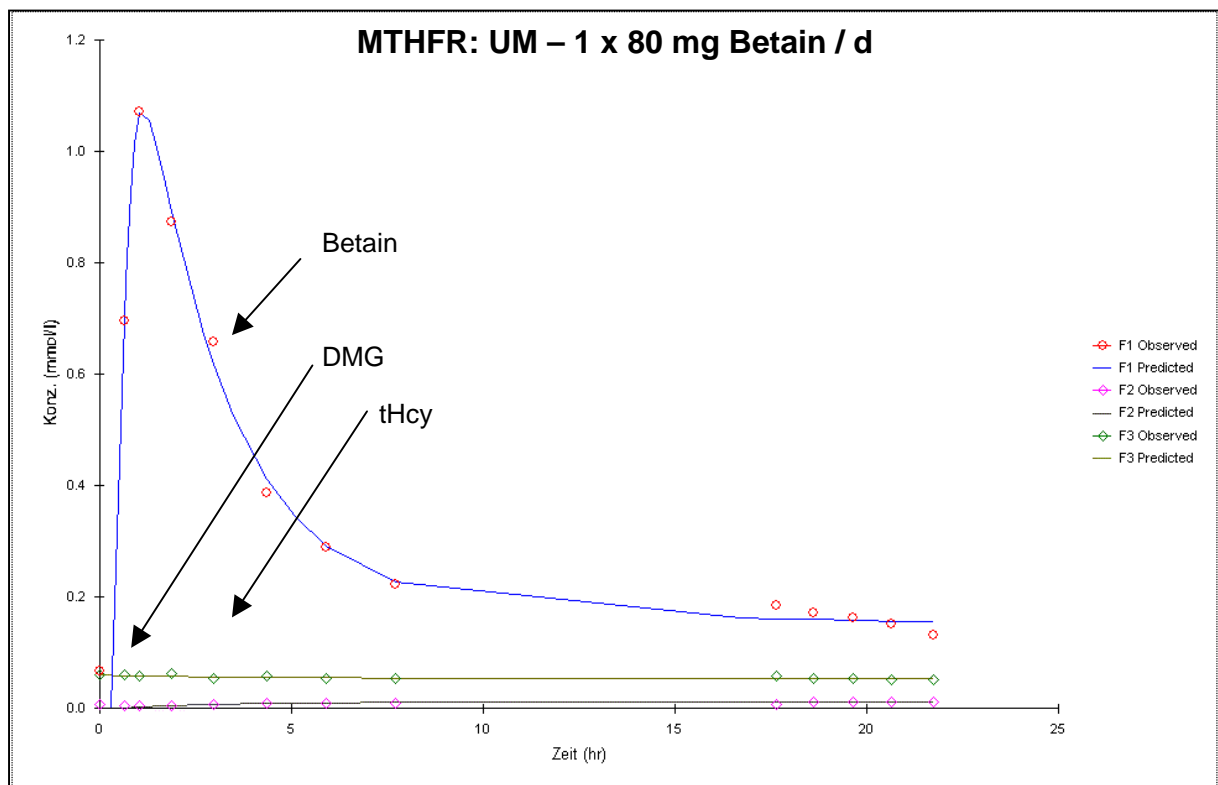
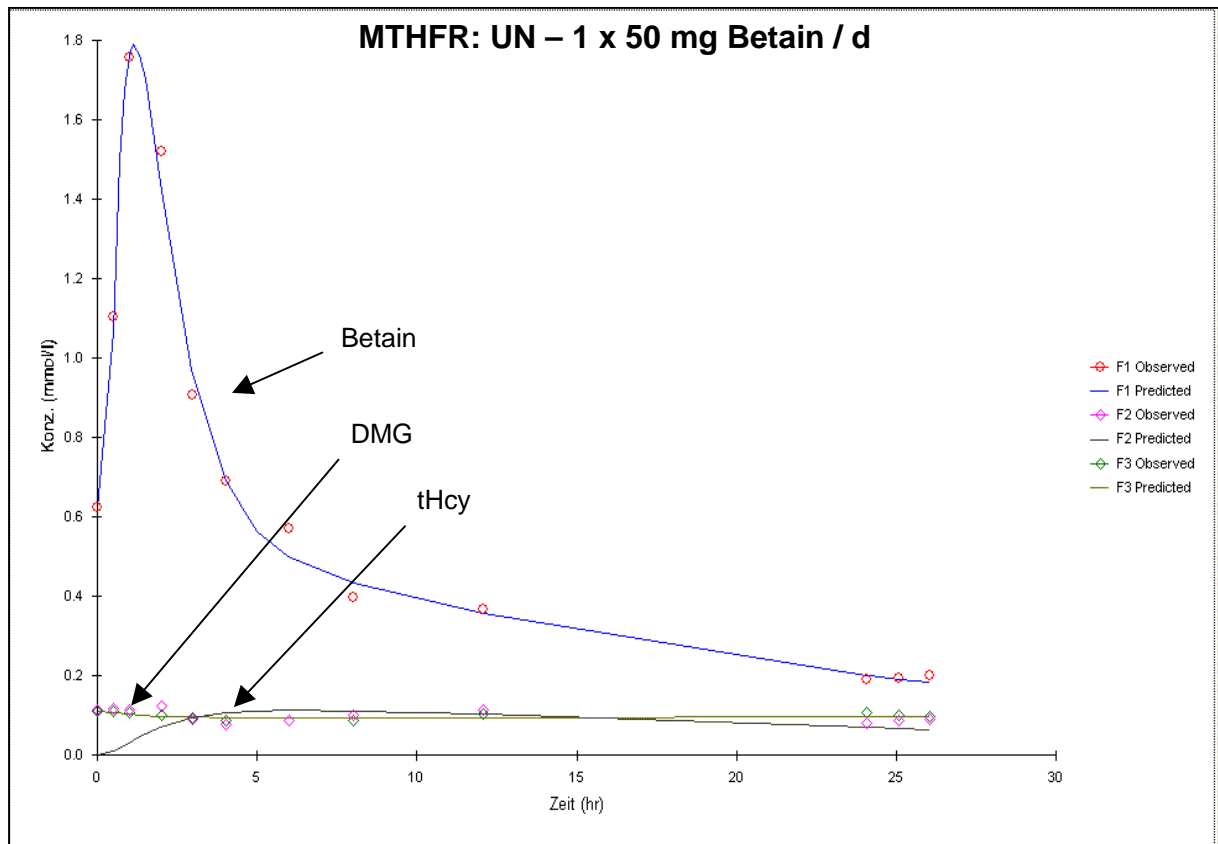
Tab. 7.4 : Pharmakodynamische Parameter der Patienten

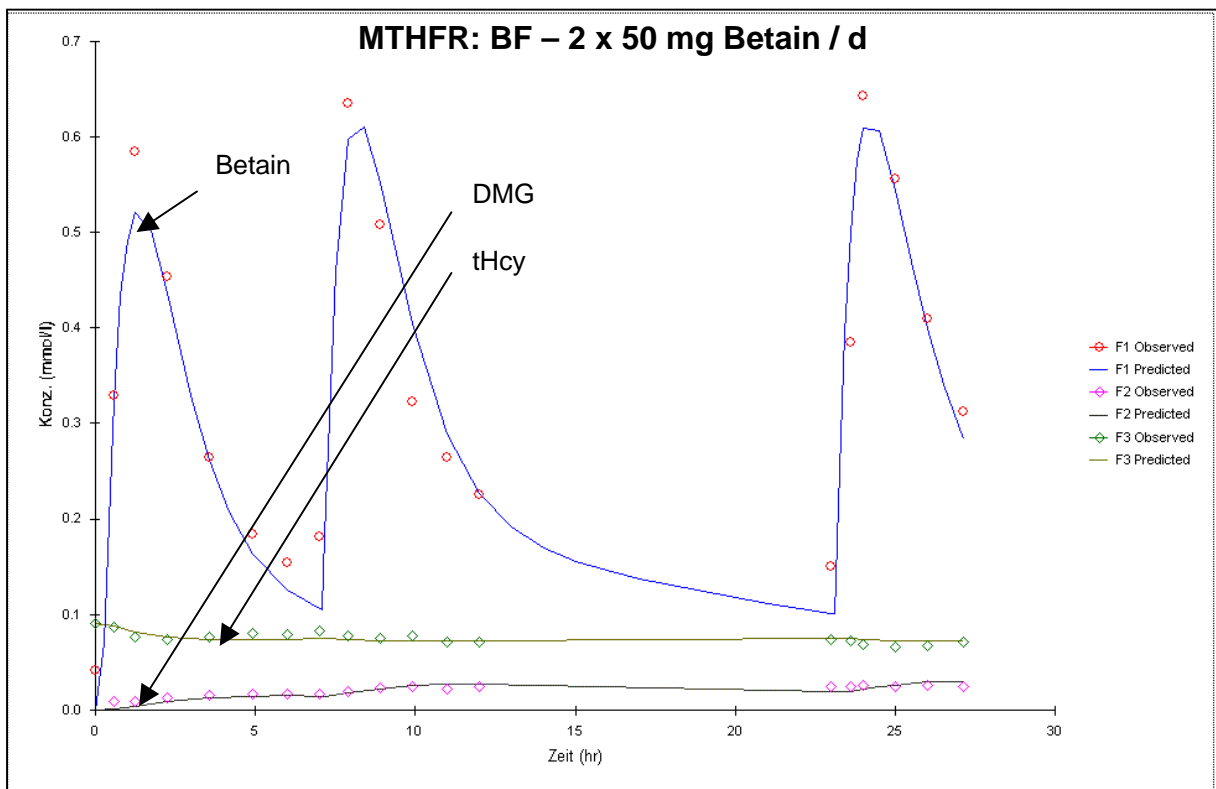
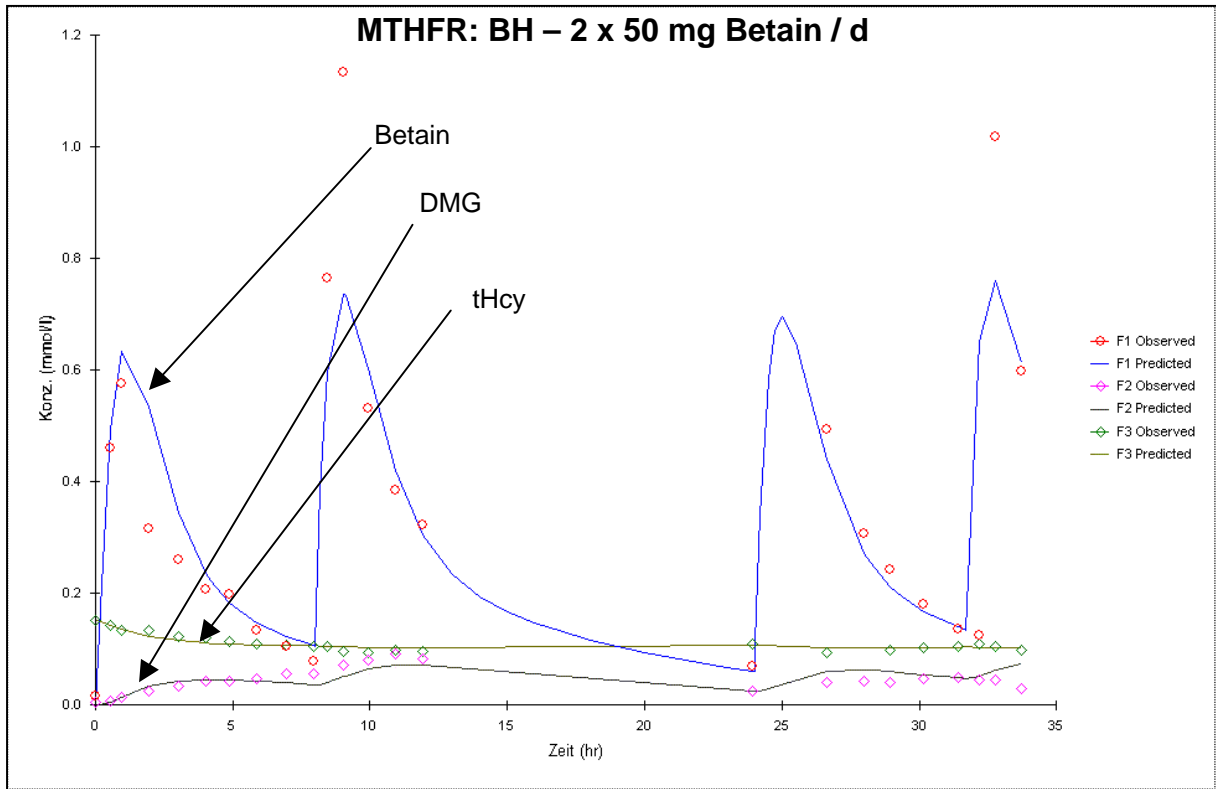
Defekt	Gruppe	Patient	E _{max} [o.D.]	EC ₅₀ [mmol/L]	T50 _{abs} [Std]	E _{max} % [%]	EC ₅₀ /Dosis [o.D.]	Hcy C=0 [mmol/L]	S	Hcy C=1 [mmol/L]	Δ-Hcy Modell [mmol/L]
CBS +	3	0	0,25	0,10	0,42	126,3	0,24	0,02	1,23	0,01	0,25
CBS +	1	1	0,38	0,09	0,51	220,6	0,22	0,05	1,35	0,04	0,38
CBS +	1	7	0,37	0,12	0,55	155,5	0,18	0,03	1,33	0,02	0,37
MTHFR	1	2	0,22	0,09	0,58	151,1	0,22	0,18	1,20	0,15	0,22
MTHFR	1	3	0,15	0,07	1,25	146,1	0,17	0,15	1,14	0,13	0,15
MTHFR	2	4	0,11	0,05	1,53	137,1	0,08	0,06	1,10	0,05	0,11
MTHFR	3	6	0,22	0,10	0,46	139,2	0,15	0,11	1,20	0,09	0,22
MTHFR	2	9	0,16	0,07	0,60	125,3	0,05	0,08	1,15	0,07	0,16
MTHFR	2	10	0,14	0,16	0,65	134,2	0,09	0,11	1,12	0,10	0,14
MTHFR	3	15	0,26	0,30	1,22	136,9	0,12	0,16	1,20	0,14	0,26
CBS +/-	2	5	0,29	0,12	0,33	133,1	0,28	0,29	1,26	0,23	0,29
CBS +/-	2	11	0,07	0,15	1,46	157,7	0,07	0,22	1,06	0,21	0,07
CBS -	1	8	0,85	0,06	0,51	459,3	0,07	0,36	1,80	0,20	0,85
CBS -	3	12	0,35	0,11	0,71	181,8	0,02	0,20	1,32	0,15	0,35
CBS -	2	13	0,16	0,09	0,68	189,0	0,03	0,11	1,15	0,10	0,16
CBS -	3	14	0,25	0,10	0,42	126,3	0,24	0,02	1,23	0,01	0,25

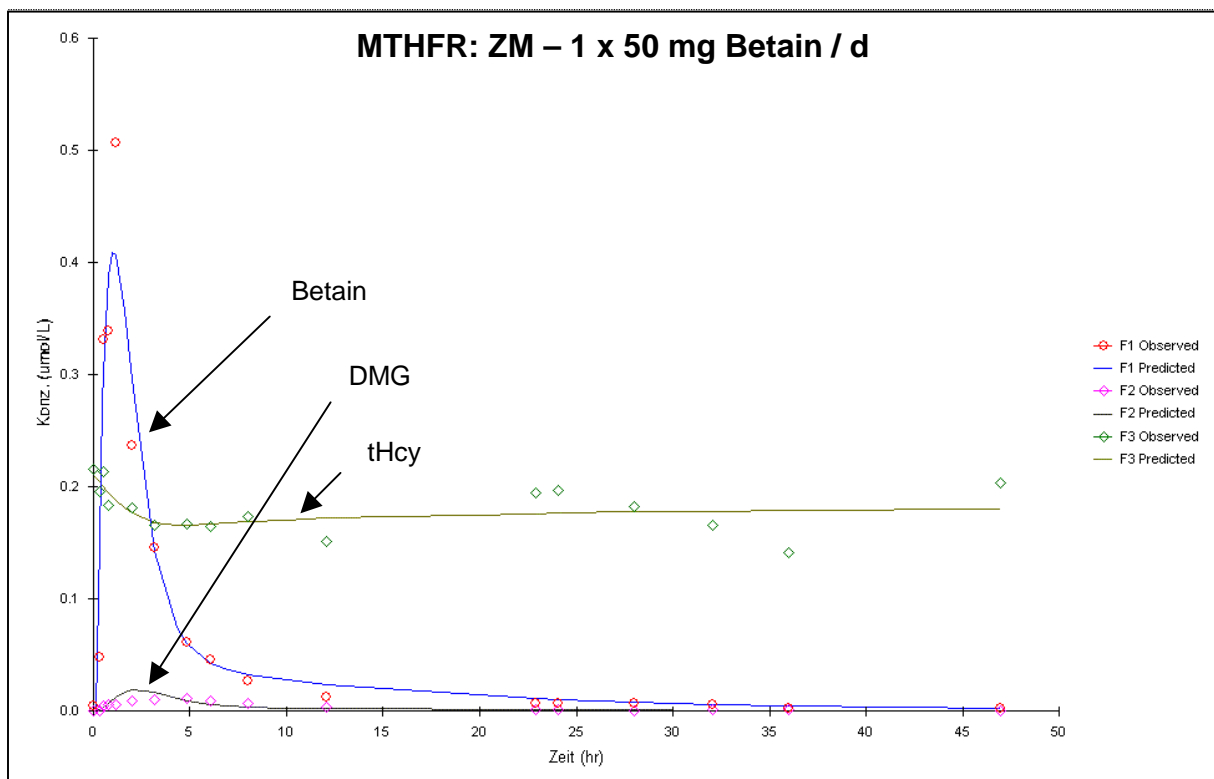
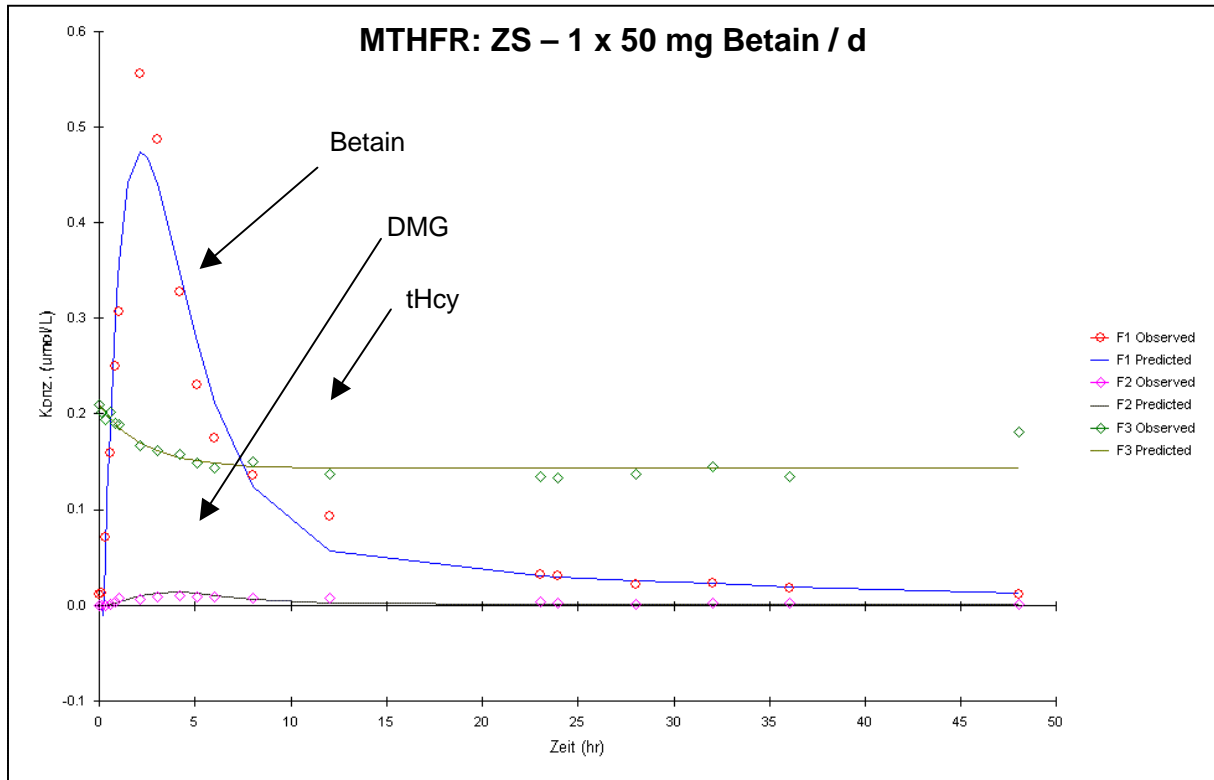
Tab. 7.5 : Neuberechnete pharmakokinetische Daten von Schwahn et al

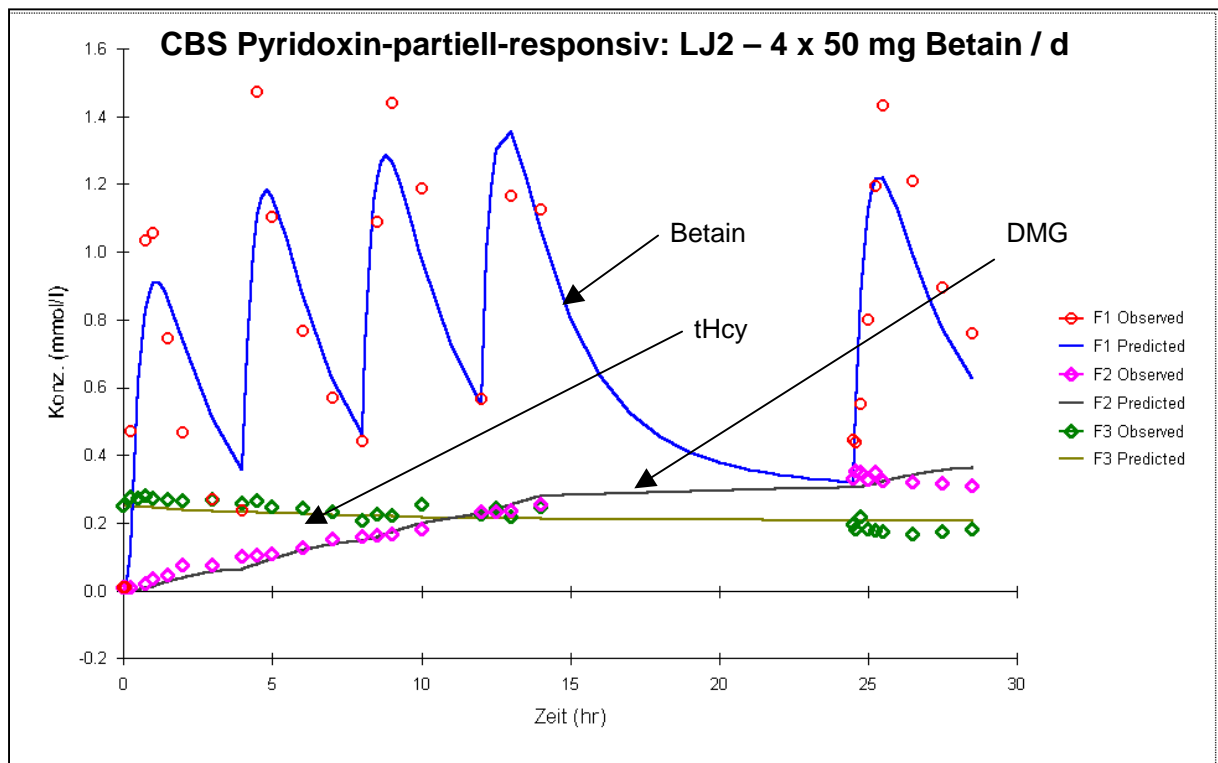
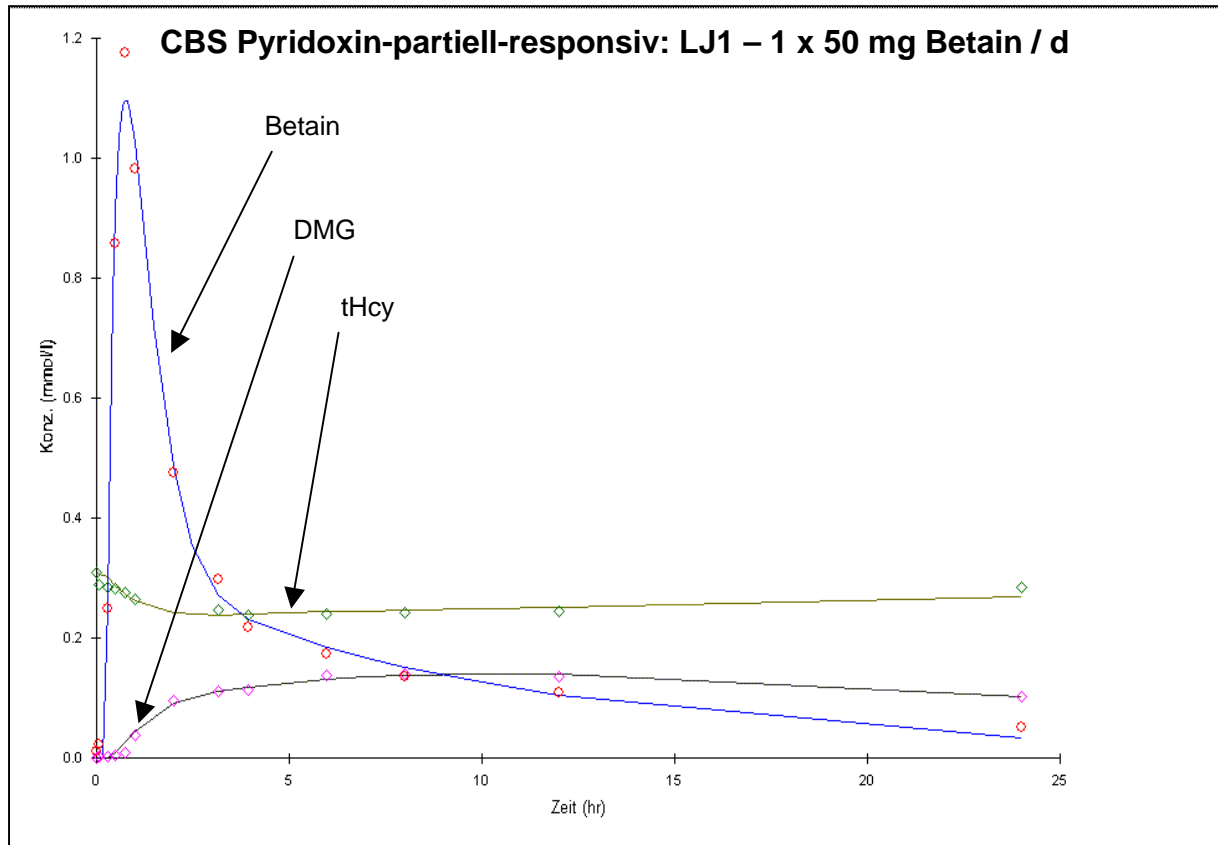
	K01	CL _D	CL _M	CL _E	V1	V2	V3	Tlag
Phase A								
101	0,94	0,29	0,10	0,08	1,77	12,83	0,22	1,19
102	0,81	0,11	0,07	0,25	1,41	12,73	0,23	1,17
103	0,82	0,28	0,13	0,07	0,83	13,76	0,20	1,50
104	0,84	0,18	0,11	0,08	0,60	14,57	0,22	1,13
105	1,82	0,15	0,08	0,14	0,57	11,96	0,24	0,47
106	2,15	0,20	0,09	0,16	0,85	13,01	0,23	1,33
107	0,86	0,30	0,06	0,02	1,91	13,20	0,23	0,78
108	1,32	0,20	0,04	0,18	1,51	12,39	0,51	0,84
109	1,13	0,16	0,07	0,23	1,40	12,59	0,22	0,91
110	1,04	0,16	0,06	0,23	1,39	12,62	0,50	1,05
111	1,87	0,24	0,07	0,18	0,99	12,76	0,20	1,15
112	2,73	0,30	0,09	0,28	0,97	12,96	0,48	1,29
Median	1,08	0,20	0,08	0,17	1,19	12,80	0,23	1,14
25. Q	0,86	0,16	0,07	0,08	0,85	12,61	0,22	0,90
75. Q	1,83	0,28	0,09	0,23	1,44	13,06	0,30	1,21
Phase B/C								
101	0,98	0,11	0,08	1,33	0,21	1,76	17,05	
102	0,64	0,10	0,07	0,80	0,12	1,48	14,81	
103	0,66	0,10	0,06	0,79	0,19	2,09	17,36	
104	1,18	0,09	0,08	0,94	0,22	1,89	15,23	
105	0,94	0,09	0,06	0,28	0,16	1,36	10,96	
106	0,93	0,08	0,06	1,42	0,16	1,55	17,83	
107	0,76	0,12	0,04	0,93	0,10	1,92	27,32	
108	0,79	0,08	0,02	0,82	0,15	2,13	13,07	
109	0,76	0,06	0,06	1,24	0,17	0,72	15,06	
110	0,55	0,06	0,05	0,42	0,18	1,40	12,75	
111	0,89	0,11	0,04	1,39	0,19	1,31	6,17	
112	0,36	0,10	0,06	1,14	0,06	1,65	15,01	
Median	0,77	0,09	0,06	0,93	0,16	1,60	15,04	
25. Q	0,66	0,08	0,05	0,80	0,14	1,39	12,99	
75. Q	0,93	0,11	0,06	1,26	0,19	1,89	17,13	

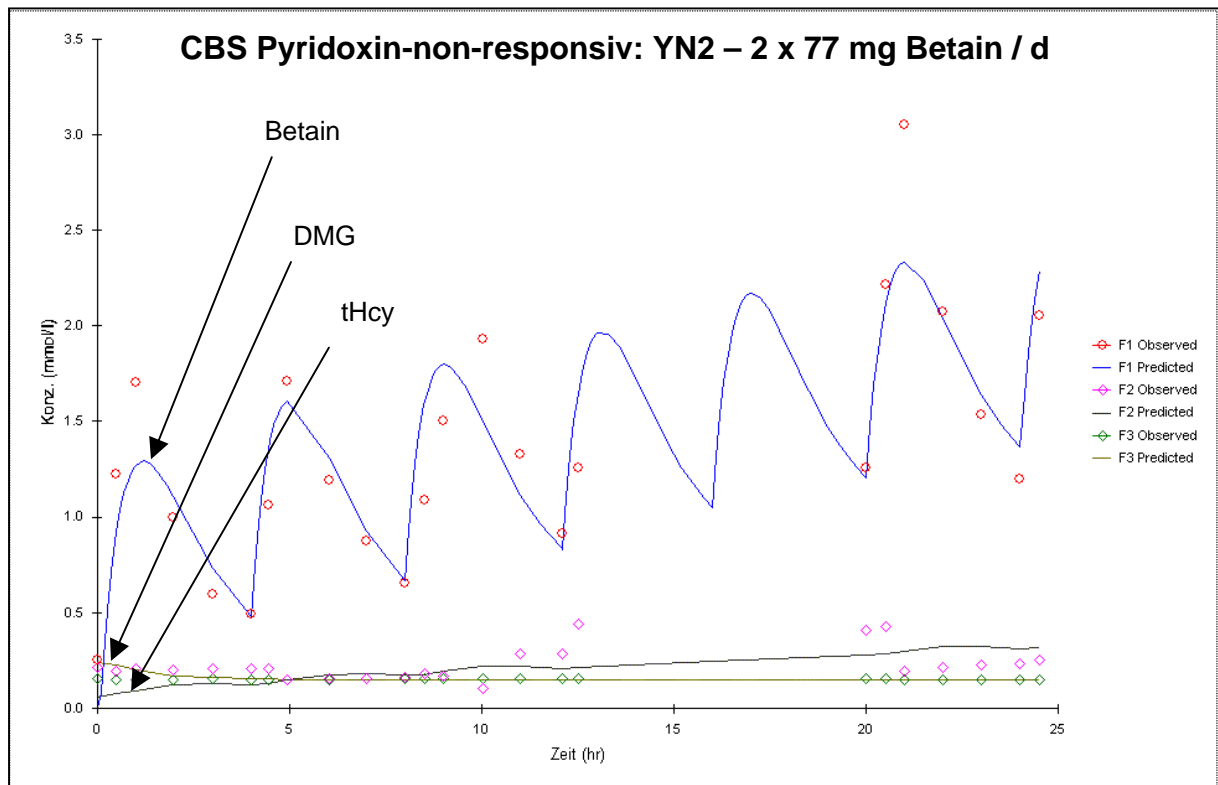
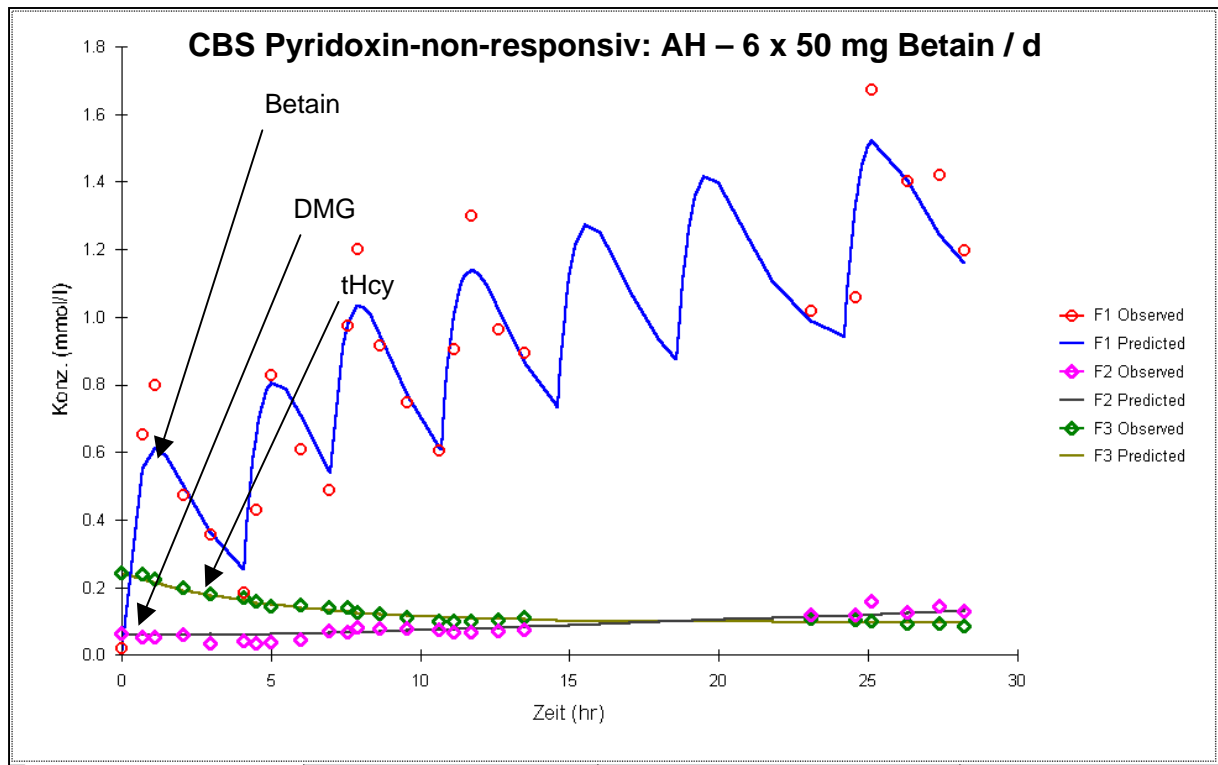
7.2 Darstellung der Modell- und Rohdaten einzelner Patienten

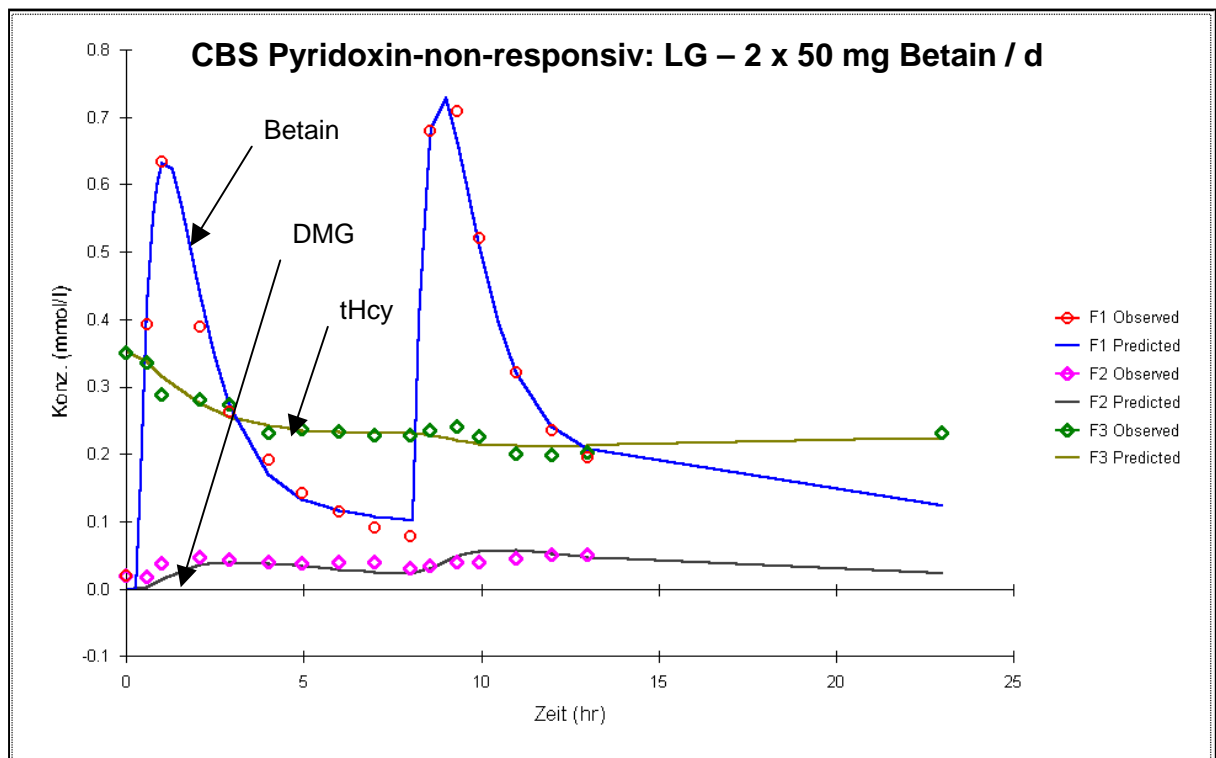
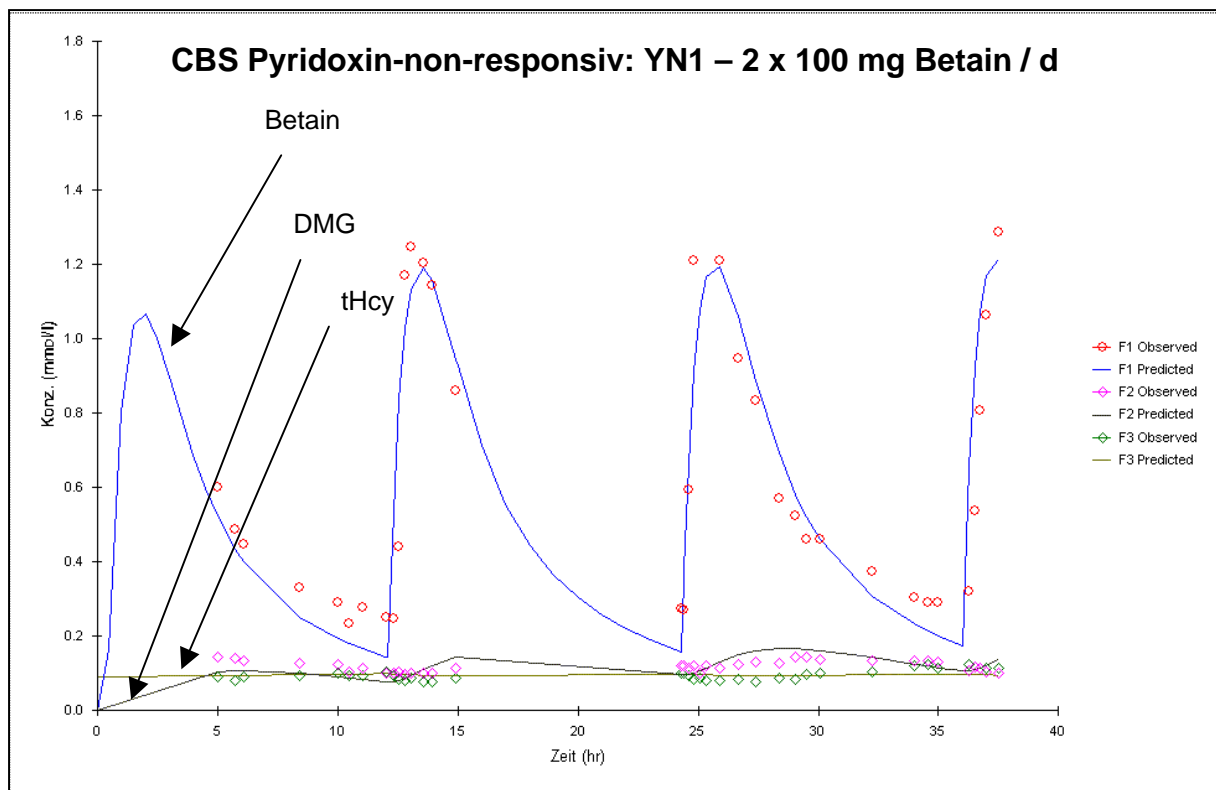


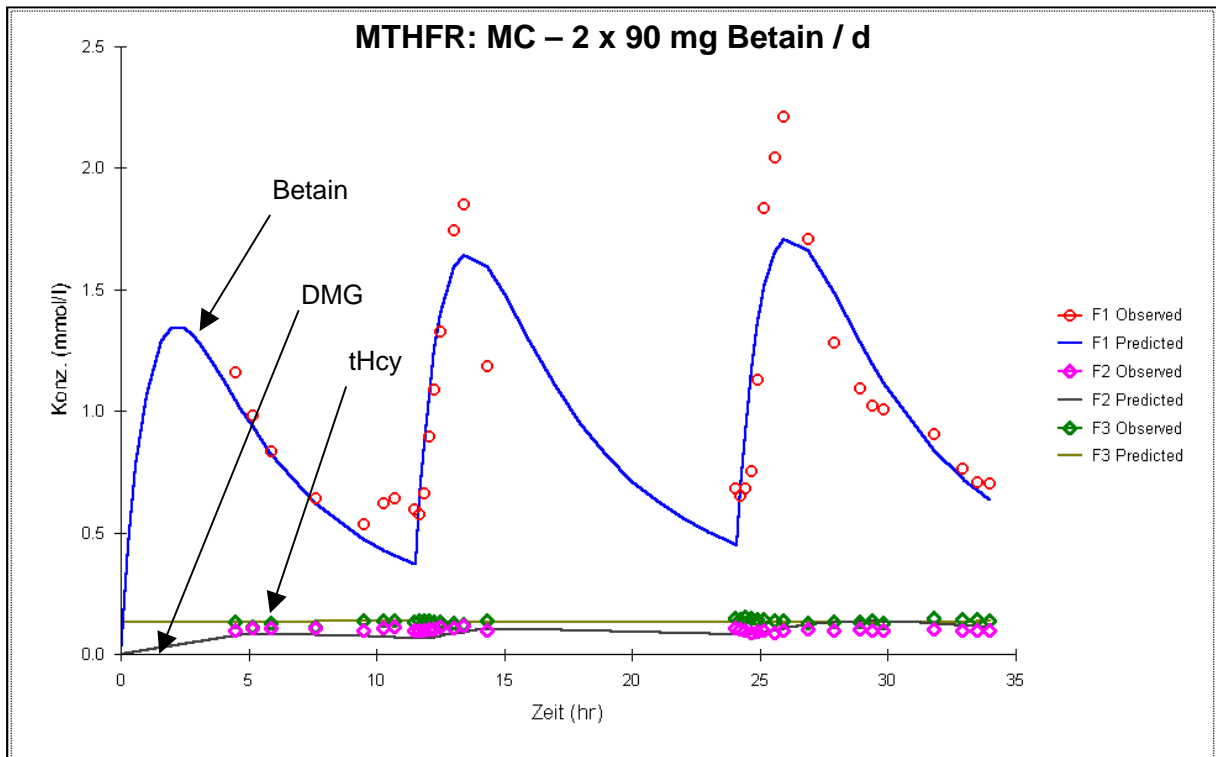
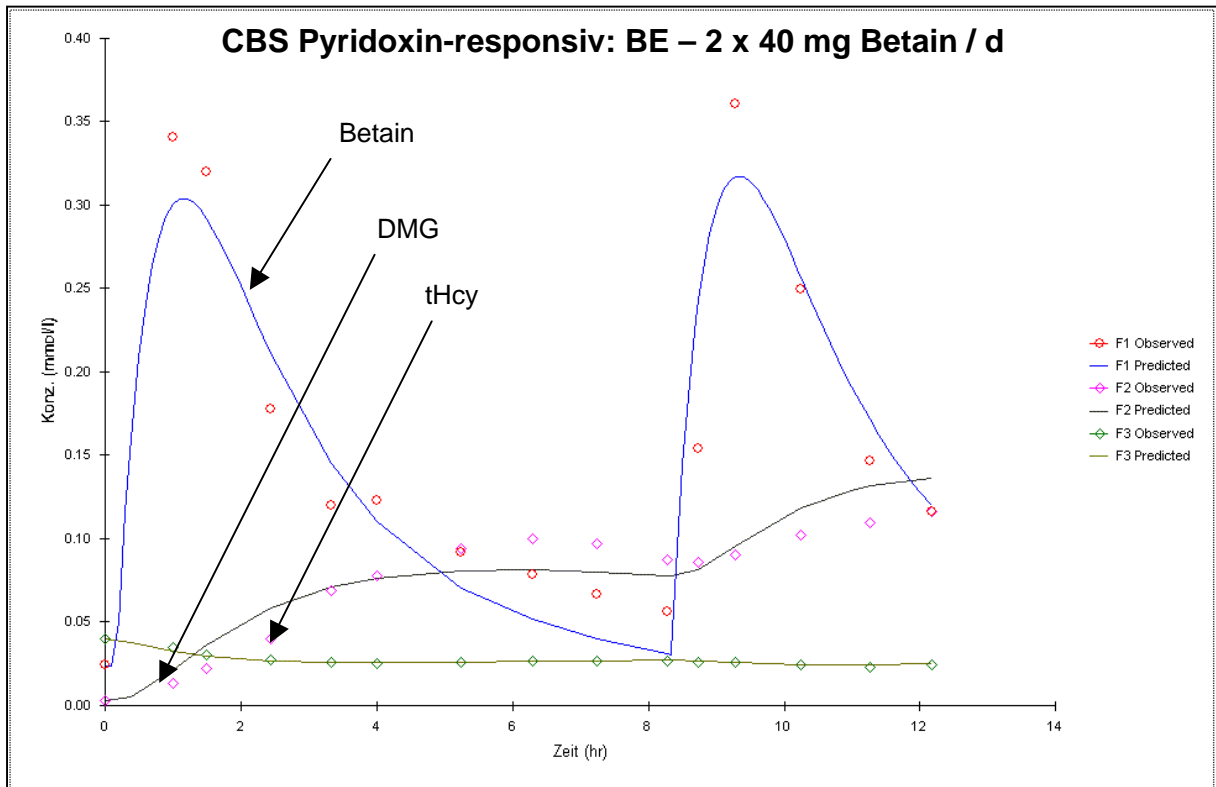












7.3 Danksagung

Ich möchte allen, die mir mit Rat und Tat sowie Motivation während der Entstehung dieser Arbeit zur Seite standen, ganz herzlich danken. Insbesondere Herrn Professor Dr. U. Wendel und Herrn PD Dr. B. Schwahn danke ich für die Möglichkeit diese Arbeit durchzuführen sowie für die sehr gute Zusammenarbeit.

Herrn Doktor Hafner danke ich für die für die Entwicklung des verwendeten Modells sowie für die geduldige Beantwortung aller pharmakologischen und mathematischen Fragen. Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Doktor M. Laryea, der mich in die allgemeine Laborarbeit und insbesondere in die Kunst der HPLC-Methodik eingewiesen hat. Darüber hinaus danke ich Frau G. Schmitz für die Einführung in die chromatographische Aminosäure-Bestimmung und dem gesamten Team des Stoffwechsellabors für die nette Aufnahme ins Team, die „ganz alltägliche“ Unterstützung und bereitwillige Beantwortung unzähliger Fragen.

Erwähnenswert ist auch die kollegiale Unterstützung der folgenden Kliniken, die freundlicherweise ihre Homocystinurie-Patienten in die Untersuchung eingeführt haben: Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Münster (Prof. Dr. Koch), Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Heidelberg (Frau Dr. Haas, Herr Dr. Lindner, Herr Prof. Dr. Hoffmann), Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Berlin (Fr. Dr. A. Schenk, Herr Prof. Dr. Mönch), Kinderklinik Paderborn (Herr Dr. W. Storm), Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Nijmegen (Herr Dr. G.H. Boers) sowie Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie der Universität Düsseldorf (Herr Dr. M. Schwarz, Herr Prof. Dr. D. Häussinger).

Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, die meinen Weg nicht nur durch finanzielle Hilfe, sondern vielmehr durch ihren emotionalen Beistand unterstützten.

7.4 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst und keine anderen Hilfsmittel als die angegebenen verwendet habe.

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Nina D. Brauer

7.5 Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN:

Name: Nina Denise Brauer geb. Balkenhol
 Geburtsdaten: 09. November 1975 in Neuss
 Adresse: Roßstr. 158, 40476 Düsseldorf
 e-mail: Nina.Brauer@med.uni-duesseldorf.de
 Familienstand: verheiratet

SCHULBILDUNG, STUDIUM UND WEITERBILDUNG

08/82 – 07/86 F. v. Bodelschwingh Grundschule, Düsseldorf
 08/86 – 06/95 Comenius Gymnasium, Düsseldorf, Abschluss Allgemeine Hochschulreife
 05/96 – 11/02 Studium der Humanmedizin, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf
 03/98 Ärztliche Vorprüfung
 09/99 1. Staatsexamen
 09/01 2. Staatsexamen
 11/02 3. Staatsexamen (Note: sehr gut, Gesamtnote gut)
 10/05 – 11/05 Zusatzbezeichnung Ernährungsmedizin

PRAKTISCHE BERUFSERFAHRUNGEN:

12/04 – dato **Assistenzärztin**
 Klinik für Allgemeine Pädiatrie
 Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Düsseldorf

08/04 – 12/04 **Wissenschaftliche Mitarbeiterin**
 „LOCUS for Homocysteine and derivated vitamins“
 Institut für Klinische Pharmakologie Universität Bergen, Norwegen
 Projekt: „Etablierung einer LC-MS/MS-Methode für die Bestimmung von Folsäure und seine Derivate“

07/04 – 08/04 **Wissenschaftliche Mitarbeiterin**
 Stoffwechsellabor, Klinik für Allgemeine Pädiatrie
 Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Düsseldorf
 Projekt: „Pathogenetische Bedeutung der Betaindepletion für die Hepatopathie bei Hyperhomocysteinämie“

01/03 – 06/04 **Ärztin im Praktikum**
 Klinik für Allgemeine Pädiatrie
 Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Düsseldorf

Düsseldorf, den 03.09.2006 Unterschrift: _____

7.6 Vorträge, Poster, Abstracts & Publikationen zu Betain

PUBLIKATION & ABSTRACTS

- 08/03 BC Schwahn, D Hafner, T Hohlfeld, ND Balkenhol, MD Laryea, U Wendel
Pharmacokinetics of oral betaine in healthy subjects and patients with homocystinuria.
Br J Clin Pharmacol 2003b;55:6-13
- 06/03 Balkenhol ND, Laryea MD, Hafner D, Wendel U, Schwahn BC. *Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of oral betaine in patients with homocystinuria.*
4th International Conference on Homocysteine Metabolism, Basel
Abstract J Inherit Metab Dis 2003; 26 Suppl.1:19
- 03/01 ND Balkenhol, MD Laryea, D Hafner, BC Schwahn, U Wendel
Betaine in the treatment of homocystinuria.
15. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen, Fulda
Monatsschrift Kinderheilkunde, Springer Berlin/Heidelberg, Jan 2002;150(1):113-125

VORTRÄGE

- 11/00 ND Balkenhol, MD Laryea, D Hafner, BC Schwahn, U Wendel
Betaine as an emergency drug.
Euregio Meeting, Düsseldorf
- 03/01 ND Balkenhol, MD Laryea, D Hafner, BC Schwahn, U Wendel
Betaine in the treatment of homocystinuria.
15. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen, Fulda
- 07/03 ND Balkenhol, D Hafner, U Wendel, MD Laryea, BC Schwahn
Pharmacokinetic-Pharmacodynamic modelling of oral betaine in patients with homocystinuria.
4. International Conference on Homocysteine Metabolism, Basel
- 09/03 ND Balkenhol, D Hafner, U Wendel, MD Laryea, BC Schwahn
Betainsupplementierung zur Behandlung der Homocystinurie – pharmakokinetisches-pharmakodynamisches „indirect response“ Modell.
Jahrestagung Deutsche Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Bonn
- 09/05 ND Balkenhol, BD Schwahn *Pharmacokinetic-Pharmacodynamic modelling of oral betaine in patients with homocystinuria.*
Jahrestagung LOCUS Group, Londonderry, Nord-Irland

POSTER

- 09/04 ND Balkenhol, D Hafner, U Wendel, MD Laryea, BC Schwahn
Pharmacokinetic-Pharmacodynamic modeling of oral betaine in patients with homocystinuria.
41. Jahrestagung Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism, Amsterdam, NL
- 07/01 ND Balkenhol, D Hafner, U Wendel, MD Laryea, BC Schwahn
Betaine in the treatment of homocystinuria.
2. International Conference on Homocysteine Metabolism, Sorrento, Italien
- 09/03 ND Balkenhol, D Hafner, U Wendel, MD Laryea, BC Schwahn
Betaine effects on severe hyperhomocysteinemia.
9. International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Brisbane, Australien