

**Barbara Plecko und Lucia Abela,
Universitäts-Kinderspital, Eleonorenstiftung, Zürich**

Zusammenfassung

Die Erstbeschreibung der Vitamin B6-abhängigen Epilepsie erfolgte 1954 durch Prof. Andrew Hunt in Philadelphia. Fast 50 Jahre später hat sich das Gebiet durch Erkenntnisse über die genetischen Hintergründe rasant weiterentwickelt. Dem Mechanismus der Vitamin B6-Abhängigkeit liegen entweder Störungen in der Bildung des aktiven Vitamin B6 (Pyridoxalphosphat; PLP) oder eine sekundäre Inaktivierung von PLP zugrunde. Hierdurch kommt es zur Störung Vitamin B6-abhängiger Enzymreaktionen im Neurotransmitter- und Aminosäurestoffwechsel. Durch Bestimmung von Biomarkern im Urin und Plasma ist ein selektives Screening für die Vitamin B6-abhängigen Epilepsien verfügbar. Bei ätiologisch unklaren Neugeborenenanfällen sowie therapierefraktärem Status epilepticus sollte frühzeitig ein standardisierter Vitamin B6-Versuch erfolgen. Dabei steht Pyridoxin-HCl als registrierte Arzneiware und aufgrund des günstigen Nebenwirkungsprofils an erster Stelle. Pyridoxalphosphat ist lediglich als Chemikalie verfügbar und sollte aufgrund jüngster Berichte über Hepatopathien nur bei Pyridoxin-Non-Respondern eingesetzt werden.

Epileptologie 2016; 33: 102 – 109

Schlüsselwörter: Neonatale Anfälle, Status epilepticus, Pyridoxin, Pyridoxal-Phosphat

Vitamin B6 Dependent Epilepsies – an Update

50 years after the first description of pyridoxine dependent epilepsy by Prof. Andrew Hunt (Philadelphia) we have a much broader understanding of its underlying genetic defect. Vitamin B6 dependent epilepsies can be caused by different mechanisms, that either cause disturbed formation of the active vitamin, pyridoxal 5'-phosphate (PLP), or its inactivation, resulting in reduced PLP availability. PLP is a cofactor of over 140 enzymatic reactions in aminoacid- and neurotransmitter metabolism. Vitamin B6 dependent epilepsies can be detected by respective biomarkers in plasma, urine or CSF. In the presence of neonatal seizures or therapy-resistant status epilepticus, a standardized vitamin B6 trial should be considered early on. Pyridoxine- HCl is a

registered drug with low risk for side effects, while PLP is only available as a chemical compound with recent reports of potential hepatotoxicity upon high-dose long term use.

Key words: Neonatal seizures, status epilepticus, pyridoxine, pyridoxal 5'-phosphate

L'épilepsie dépendante de la vitamine B6 - mise à jour

L'épilepsie dépendante de la vitamine B6 a été décrite pour la première fois en 1954 par le professeur Andrew Hunt à Philadelphie. Près de 50 ans après, ce domaine a connu des progrès rapides grâce aux résultats obtenus sur les bases génétiques. Le mécanisme de la dépendance de la vitamine B6 repose soit sur des anomalies dans la formation de la vitamine B6 active (phosphate de pyridoxal ; PLP), soit sur une inactivation secondaire du PLP. Les réactions enzymatiques dépendantes de la vitamine B6 dans le métabolisme des neurotransmetteurs et des acides aminés s'en trouvent alors perturbées. La détermination de biomarqueurs dans l'urine et le plasma permet un dépistage sélectif de l'épilepsie dépendante de la vitamine B6. En cas de crises d'étiologie imprécise ainsi que d'état de mal épileptique réfractaire au traitement, un essai standardisé à la vitamine B6 doit être réalisé précocement. La pyridoxine HCl, en tant que médicament enregistré présentant un profil d'effets secondaires favorable, figure alors au premier plan. Le phosphate de pyridoxal est disponible uniquement sous forme de produit chimique et, en raison des derniers rapports relatifs à des hépatopathies, ne doit être utilisé que chez les patients ne répondant pas à la pyridoxine.

Mots clés : Crises néonatales, status epilepticus, pyridoxine, phosphate de pyridoxal

Einleitung

1954 erfolgte die Erstbeschreibung der Pyridoxin-abhängigen Epilepsie (PDE) durch Andrew Hunt, Professor am Childrens' University Hospital in Philadelphia, USA [1]. Er hatte an einem weiblichen Neugeborenen mit ätiologisch unklaren, therapieresistenten Krampfanfällen die positive Wirkung eines Vitamincocktails erkannt, welchen das Mädchen wegen einer interkurrenten Pneumonie erhalten hatte. Ein Bruder des Mädchens war vorangehend an therapieresistenten Neugeborenen-Anfällen verstorben. Die konsequente Untersuchung der einzelnen Bestandteile des Vitamincocktails erbrachte schliesslich die Erkenntnis, dass die Anfälle des Kindes auf Vitamin B6 (Pyridoxin) angesprochen hatten und bei Absetzen rezidierten. Untersuchungen auf einen Vitamin B6-Mangel verliefen negativ, und der genetische Hintergrund der Vitamin B6-abhängigen Epilepsie blieb über 50 Jahre hindurch unklar.

Innerhalb der letzten zwei Dekaden wurden durch die Erfassung biochemischer Parameter und hypothesengetriebene Forschung verschiedene genetische Defekte als molekulare Grundlagen von Vitamin B6-abhängigen Epilepsien erkannt.

Vitamin B6 ist in zahlreichen Nahrungsmitteln wie Gemüse, Getreide, Fleisch, Milch und Milchprodukten enthalten. Es wird in unterschiedlichen Vitaminen (Pyridoxin, Pyridoxamin, Pyridoxalphosphat und deren veresterten Formen) im Dünndarm als wasserlösliches Vitamin aufgenommen und durchläuft im Körper eine Umwandlung zum aktiven Vitamin, dem Pyridoxal 5'-Phosphat (**Abbildung 1**). Der Tagesbedarf für Vitamin B6 liegt bei Erwachsenen um 1,2 - 1,4 mg/Tag, beim Säugling um 0,2 mg/Tag. Vitamin B6 (PLP) ist einer der wichtigsten Kofaktoren und ist an > 140 enzymatischen Reaktionen im Aminosäure- und Neurotransmitterstoffwechsel beteiligt.

In den 60er Jahren waren in den USA Säuglinge mit Krampfanfällen aufgefallen, welche mit einer neuen Säuglingsformel ernährt wurden. Diese Anfälle waren durch einen alimentären Vitamin B6-Mangel verursacht worden, da die Nahrung im Herstellungsprozess zu stark erhitzt worden war. Ein alimentärer Vitamin B6-Mangel wird heute nur sehr selten im Rahmen schwerer Grunderkrankungen oder bei chronischer Fehlernährung in Kombination mit anderen Vitaminmangelzuständen beobachtet. Interessanterweise führen auch einige Medikamente, wie das Tuberkulostatikum Isoniazid, zu einem Vitamin B6-Mangel durch Inaktivierung. Krampfanfälle bei alimentärem oder medikamentös induziertem Vitamin B6-Mangel können durch kurzfristige Gaben von Vitamin B6 in therapeutischen Dosen (zum Beispiel 30 mg/Tag über 1 - 2 Wochen) therapiert werden.

Genetische Defekte mit Vitamin B6-abhängigen Anfällen verursachen hingegen eine lebenslange Vitamin B6-Abhängigkeit mit hyperphysiologischem Vitamin

B6-Bedarf in Dosen um 100 - 500 mg/Tag.

Genetische Defekte mit Vitamin B6-abhängigen Anfällen umfassen

1. Angeborene Defekte des Vitamin B6-Stoffwechsels
2. Angeborene Defekte mit Inaktivierung von Vitamin B6 (Pyridoxal 5'-Phosphat)

Vitamin B6-abhängige Epilepsie (Pyridoxine-Dependent Epilepsy, PDE)

Die PDE ist charakterisiert durch neonatale Anfälle mit Therapieresistenz gegen herkömmliche Antikonvulsiva [2]. Die Anfälle beginnen oft wenige Stunden postpartal mit häufigen myoklonischen und tonischen Anfallsmustern, welche in einen Status epilepticus übergehen können [3, 4]. In einigen Fällen bestanden bereits intrauterine Anfälle, welche von den Schwangeren als anhaltende rhythmische Kindsbewegungen wahrgenommen werden.

Häufig werden die Anfälle von einem enzephalopathischen Zustandsbild begleitet. Dies bedeutet, dass die Neugeborenen auch zwischen den Anfällen neurologisch auffällig bleiben. Dies zeigt sich durch eine hohe Irritabilität, Schreiatacken und Schlaflosigkeit. Dieser Zustand kann als Drogenentzugssyndrom fehlgedeutet werden. Etwa ein Drittel der Patienten mit PDE hat eine verzögerte Adaptation mit niedrigem APGAR-Score und wird daher in Zusammenschau mit den Anfällen als hypoxisch-ischämische Enzephalopathie (HIE) verkannt. Im Gegensatz zur HIE sind die Anfälle bei PDE jedoch therapieresistent, ein partielles Ansprechen auf Phenobarbital ist aber möglich.

Schmitt et al. haben die Anfallsmuster und EEG-Veränderungen bei PDE ausführlich beschrieben. Diese reichen von unauffälligen Befunden oder unspezifischer Verlangsamung bis hin zu „burst suppression“-Mustern. In dem Artikel sind auch Videos von Patienten veröffentlicht [4]. Das kraniale MRI ist häufig unauffällig, kann aber auch Veränderungen mit hypoplastischem Corpus callosum, supratentorieller Atrophie, periventriculären Hyperintensitäten, intraventriculären Hämorrhagien, eine Megacisterna magna oder selten auch kortikale Dysplasien aufzeigen [2]. Etwa 85 % der Patienten zeigen nach einer ersten Gabe von Pyridoxin (50 - 100 mg i.v.) ein promptes Sistieren der Anfälle mit nachfolgender Besserung im EEG [5].

Die erste Gabe von Pyridoxin kann zu schweren Apnoen oder auch passagerem Koma führen. Daher sollte die erste Gabe in einem adäquaten Setting unter Reanimationsbereitschaft erfolgen. Bei etwa 15 % der PDE-Patienten ist die Reaktion auf die erste Pyridoxin-Dosis unschlüssig, wobei auch ein simultan abgeleitetes EEG keine genauere Interpretation erlaubt [6]. Der Aufwand einer simultanen EEG-Ableitung kann daher entfallen. Wegen des unschlüssigen Ansprechens

in 15 % der Fälle ist es jedoch wichtig, den Vitamin B6-Versuch standardisiert über 3 aufeinanderfolgende Tage mit einer Dosis von 30 mg/kg/Tag, in 2 - 3 Einzeldosen durchzuführen. Dies ermöglicht eine Erfassung aller Patienten, auch jener mit verzögertem Ansprechen [7]. Einige Patienten mit PDE zeigen neben den therapieresistenten Anfällen schwere systemische Symptome, mit galligem Erbrechen, deutlich aufgetriebenem Abdomen, Hepatomegalie, Schock, Laktatazidose oder Hypoglykämie mit rascher Besserung unter Pyridoxintherapie [5].

Obwohl die Erstbeschreibung der PDE auf das Jahr 1954 datiert, wurde der zugrundeliegende autosomal rezessiv vererbte Defekt eines Antiquitinmangels erst 2006 geklärt, welcher für einen Grossteil der PDE-Fälle verantwortlich ist [8, 9].

Das Antiquitin-Gen (*ALDH7A1*) kodiert für die Alpha-Aminoadipin-Semialdehyd-Dehydrogenase, ein Enzym im Abbau der essenziellen Aminosäure L-lysine (**Abbildung 1**). Die anstauenden Zwischenprodukte, speziell Piperideine 6-Carboxylat (P6C) führt zu einer Inaktivierung von PLP mit sekundärem „zerebralem Vitamin B6-Mangel“ und einem lebenslangen Bedarf an hyperphysiologischen Pyridoxin-Dosen. Eltern erklären wir dieses Phänomen gerne mit einem „Vitamin B6-Räuber“, auch um klarzustellen, dass es sich bei der PDE nicht um eine zu niedrige Zufuhr des Vitamins oder gar um eine Fehlernährung handelt. Für die Diagnosestellung des Antiquitinmangels gibt es verlässliche Biomarker, nämlich den Nachweis von erhöhtem Alpha-Aminoadipin-Semialdehyd (AASA) im Urin. Die AASA-Werte sinken unter Vitamin B6-Gabe, bleiben jedoch im pathologischen Bereich. Da AASA auch bei Patienten mit Molybdän-Kofaktormangel erhöht ist [10], muss simultan zur Bestimmung der AASA auch jene von Sulfozistein erfolgen. Im Labor des Kinderspitals Zürich konnte die Diagnostik des Antiquitinmangels erfolgreich aufgebaut werden, und die Bestimmung der AASA kann routinemässig angefordert werden.

Eine Erhöhung der Pipecolinsäure im Plasma oder Liquor ist ebenfalls zuverlässig, allerdings weniger spezifisch, da die Pipecolinsäure auch bei peroxisomalen Erkrankungen erhöht sein kann [7]. Aufgrund der Verfügbarkeit von Biomarkern ist ein Vitamin B6-Absetzversuch nach Ansprechen heutzutage obsolet. Nach positivem Ansprechen auf Vitamin B6 und bei Nachweis von erhöhtem AASA erfolgt zum Nachweis von Mutationen oder auch Deletionen die molekulare Untersuchung des Antiquitins [5, 11]. Auch diese Untersuchung wird im Stoffwechsellabor des Kinderspitals Zürich angeboten.

Säuglinge werden üblicherweise mit Pyridoxindosen von 20 bis 30 mg/kg/Tag, aufgeteilt in 2 - 3 Einzeldosen (ED), behandelt. Jenseits des Säuglingsalters beträgt die übliche Pyridoxin-Gesamtdosis 100 mg/Tag bis 300 mg/Tag. Pyridoxin ist in der Regel gut verträglich. Bei Dosen um 1000 mg/Tag sind (reversible) sensorische Neuropathien beobachtet worden. Individuell

kann die Hemmschwelle für diese Nebenwirkung aber auch niedriger liegen (persönliche Kommunikation V. Bok). Es empfiehlt sich daher bei den Verlaufskontrollen nach dem Vorliegen von Sensibilitätsstörungen zu fragen, und anhand der Muskeleigenreflexe die Intaktheit des Reflexbogens zu prüfen. Die Durchführung einer Nervenleitgeschwindigkeit ist lediglich bei klinischen Auffälligkeiten angezeigt.

90 % der Patienten mit Antiquitinmangel bleiben auf Pyridoxinmonotherapie anfallsfrei, 10 % erleiden afebrile Anfallsrezidive und benötigen eine Komedikation mit konventionellen Antikonvulsiva [5]. Patienten mit febrilen Anfallsrezidiven profitieren von einer passageren Verdoppelung der Pyridoxin-Dosis während der ersten 3 - 5 Infekttage.

Etwa 75 % aller Kinder mit PDE zeigen eine leichte bis moderate kognitive Beeinträchtigung, welche nur teilweise mit der Diagnoseverzögerung oder dem Genotyp korreliert [7]. Möglicherweise ist diese kognitive Beeinträchtigung durch eine Toxizität der anstauenden Stoffwechselprodukte verursacht. Dies steht im Einklang mit der Beobachtung, dass auch eine präventive intrauterine Therapie mit Pyridoxin in nachfolgenden Schwangerschaften zwar effektiv war, um das Auftreten von Anfällen zu verhindern, die Nachkommen aber dennoch eine kognitive Beeinträchtigung aufwiesen [7].

Daher wurden neue Therapiestrategien entwickelt, um zusätzlich zur Kompensation des zerebralen Vitamin B6-Mangels auch den Lysinstoffwechsel selbst günstig zu beeinflussen. Dies ist in Form einer lysinreduzierten, also Eiweiss-reduzierten Diät möglich [12].

Lysinreduzierte Diät als „add-on“-Behandlung des Antiquitinmangels

Die lysinreduzierte Diät ist aktuell als experimentelle Therapie, bzw. individueller Heilversuch zu verstehen, da noch nicht ausreichend Daten für ihre Wirksamkeit im Sinne eines besseren kognitiven Outcomes vorliegen. Um die Bildung der toxischen Stoffwechselprodukte (hauptsächlich AASA) zu reduzieren, wird optimal ab dem 3. - 4. Lebensmonat mit einer eiweissarmen Diät begonnen. Hierbei wird die Zufuhr von Lysin auf ca. 50 % der Norm reduziert [13]. Dies erfordert die Berechnung der Nährstoffzufuhr, insbesondere des Lysingehaltes der Nahrungsmittel anhand einer Nahrungsmitteltabelle. Ein Teilstillen ist gut möglich, da der Lysingehalt der Muttermilch im Vergleich zu Formulanahrungen gering ist. Durch den Entfall besonders eiweissreicher Nahrungsmittel ist die Diät vegetarisch (Milchprodukte oder Ei in berechneter Menge) bis vegan (keinerlei tierische Produkte). Jenseits des Säuglingsalters ist zur Abdeckung des Kalorienbedarfes der Einsatz eiweissarmer Spezialprodukte (Nudel, Brot, eiweissarmes Mehl) erforderlich. In welchem Ausmass eiweissarme Spezialprodukte zum Einsatz kommen, hängt

nicht zuletzt vom Essverhalten der Kinder ab (je mehr Appetit, umso eher müssen eiweissarme Kohlehydrate eingesetzt werden).

Für die Abdeckung des altersgemässen Eiweissbedarfes und ein normales Wachstum ist zusätzlich die Einnahme einer Aminosäurespezialmischung erforderlich, welche lysinfrei ist, jedoch alle übrigen Aminosäuren und vor allem auch Vitamine und Spurenelemente enthält. Daher ist die regelmässige und vollständige Einnahme der Aminosäuremischung wesentlich, um eine Mangelernährung zu verhindern. Die Diät des Antiquitinmangels ist ähnlich jener der Glutarazidurie Typ I (hier ist der Abbau von Lysin und Tryptophan betroffen) und weniger einschränkend als jene bei klassischer PKU. Dennoch erfordert die Durchführung eine gute Aufklärung der Eltern sowie Schulung und Begleitung durch eine erfahrene Diätassistentin. Auch die Kinderkrippe oder Aufsichtspersonen müssen gut über die Diätprinzipien informiert werden. Die Einnahme von Pyridoxin muss selbstverständlich unverändert fortgesetzt werden. Die Kostenübernahme für die lysinfreie Aminosäurespezialmischung erfolgt nach individuellem Ansuchen durch die IV.

Zur Dokumentation des Therapieeffektes erfolgt eine regelmässige Kontrolle der Biomarker (AASA und Pibecolinsäure im Urin sowie Plasma, wenn möglich auch im Liquor). Gleichzeitig erfolgen Laborkontrollen, um durch Bestimmung der Aminosäuren im Plasma, sowie zum Beispiel der Eisen- und Vitamin B12-Konzentration mögliche Nebenwirkungen der Diät im Sinne einer Mangelernährung frühzeitig zu erkennen.

Bisherige Daten haben gezeigt, dass durch die Lysin-reduzierte Diät ein weiteres Absinken der Biomarker, jedoch weiterhin keine Normalisierung derselben erfolgt [12].

Am Kinderspital Zürich sind derzeit in Zusammenarbeit mit dem Kinderspital Winterthur sowie dem Kinderspital Fribourg zwei kleine Patientinnen mit Antiquitinmangel und lysinreduzierter Diät in Betreuung. Der Diätbeginn lag bei 4 bzw. 19 Monaten. Die Akzeptanz durch die Eltern ist sehr gut. Der klinische Therapieeffekt wird zusätzlich zu den Kontrollen der Anfallsituation und EEG-Befunde mittels Griffith-Tests und jenseits des 2. Lebensjahres mit dem Baileys-Test dokumentiert.

Arginin-Supplementierung als „Tripel-Therapie“

Aufgrund der fehlenden Normalisierung der Biomarker unter Kombination von Pyridoxin und lysinreduzierter Diät, haben Forschergruppen in den USA und Kanada nun die zusätzliche Gabe von hochdosiertem L-Arginin (150 mg/kg/Tag) im Sinne einer Tripel-Therapie versucht [14]. Auch hierbei handelt es sich aktuell um eine experimentelle Therapie im Sinne eines individuellen Heilversuches. Der potenzielle Effekt basiert auf dem Prinzip der kompetitiven Hemmung, da L-Arginin

und L-Lysin im Darm, aber auch an der Bluthirnschranke über denselben Transportmechanismus aufgenommen werden. Extrem hohe Konzentrationen von Arginin können daher die Aufnahme von L-Lysin hemmen und damit den Effekt einer lysinreduzierten Diät „ersetzen“ oder verbessern. Die hochdosierte L-Arginintherapie könnte auch bei älteren Patienten mit Antiquitinmangel zum Einsatz kommen, welche die Umstellung auf eine vegetarische Diät nicht akzeptieren. Inwieweit hierdurch in späterem Lebensalter noch ein positiver Effekt in der kognitiven Leistungsfähigkeit erzielt werden kann, ist offen.

Antiquitinmangel und Folsäure

Im Jahr 2009 wurde erkannt, dass die 1995 von Keith Hyland beschriebene folsäureabhängige Epilepsie allelisch, also genetisch dem Antiquitinmangel identisch ist [15]. Dabei ist die Rolle der Folsäure bis heute unverstanden und könnte evtl. durch deren Rolle im Aminosäurestoffwechsel auf einen „Einsparungseffekt“ von Vitamin B6 zurückzuführen sein (persönliche Kommunikation mit P. Clayton 2014). Daher kann der zusätzliche Einsatz von Folsäure, 3 - 5 mg/kg/Tag als Einzeldosis, gerade bei Neugeborenen mit inkompletem Ansprechen auf Pyridoxin sinnvoll sein.

Der Vollständigkeit halber seien hier auch die kongenitale Hypophosphatasie und die Hyperprolinämie Typ II erwähnt [16].

Kongenitale Hypophosphatasie

Nur bei den schwersten Formen der kongenitalen Hypophosphatasie kann es im Neugeborenenalter noch vor Diagnose der krankheitsbestimmenden Skeletypomineralisation zum Auftreten myoklonischer, therapieresistenter Anfälle kommen [17]. Zugrunde liegt ein autosomal rezessiv vererbter Defekt der alkalischen Phosphatase, welche neben ihrer Funktion in der Knochenmineralisation auch für die Dephosphorylierung von PLP für die zelluläre Aufnahme verantwortlich ist. Als Ausdruck dieses Effektes zeigt das Vitamin B6-Plasmaprofil bei dieser Erkrankung erhöhte Konzentrationen von PLP bereits vor einer evtl. Therapie mit Pyridoxin. Die Diagnose der kongenitalen Hypophosphatasie kann im Routinelabor durch sehr tiefe Konzentrationen der alkalischen Phosphatase, erhöhtes Serumkalzium und erniedrigte Serumphosphorspiegel gestellt werden. Mit Einführung einer Enzymersatztherapie hat sich der frühletale Verlauf dieser Erkrankung dramatisch verbessert [17].

Hyperprolinämie Typ II

Auch diese Erkrankung führt zu Pyridoxin-responsiven Anfällen, ist im Verlauf jedoch wesentlich milder und geht oft mit einer normalen kognitiven Entwicklung einher [18]. Durch einen späteren Anfallsbeginn im Kleinkindalter und das oft gute Ansprechen auf herkömmliche Antikonvulsiva entgeht diese Stoffwechselerkrankung vermutlich häufig einer korrekten Diagnose. Der Mechanismus der PLP-Inaktivierung durch sich anstauende Zwischenprodukte wurde bei dieser Erkrankung im Jahr 2000 zuallererst erkannt [19].

Im Jahr 2014 wurde beschrieben, dass auch Patienten mit PNPO-Mangel ein vollständiges Ansprechen auf Pyridoxin zeigen können (Mills, Plecko). Dies wird im nachfolgenden Abschnitt näher ausgeführt. Weiters ist bei Mutationen im KCNQ2-Gen und neonatalen tonischen Anfallsmustern ein Ansprechen auf Pyridoxin beobachtet worden [20].

Pyridox(am)in 5'-Phosphat Oxidase (PNPO)-Mangel

Erstbeschrieben wurde der PNPO-Mangel in Taiwan, wo Pyridoxalphosphat, also das aktive Vitamin B6-Vitamer, als i.v. Lösung erhältlich ist und beim Vitamin B6-Versuch zum Einsatz kommt. Da die Patienten bei Umstellung auf orales Pyridoxin Anfallsrezidive zeigten, wurde diese Epilepsie ursprünglich als Pyridoxin-resistente, hingegen Pyridoxal-Phosphat-abhängige Epilepsie beschrieben. Klinisch und in der Anfallssemiotik hat der PNPO-Mangel eine breite Überlappung zum wesentlich häufigeren Antiquitinmangel, bis auf die höhere Rate an Frühgeburtlichkeit, wie sie bei 60 % der Patienten mit PNPO-Mangel beobachtet wird [21, 22]. Publikationen der letzten Jahre zeigen für den PNPO-Mangel ein erweitertes phänotypisches Spektrum und gutes Outcome bei früher Diagnose [23]. Ein Patient entwickelte im Alter von 5 Monaten PLP responsive infantile Spasmen [24]. Auch beim PNPO-Mangel ist das MRI oft normal, bei Diagnoseverzögerung kann es aber rasch zu irreversiblen Schäden mit Signalalteration der weissen Substanz und supratentorieller Hirnatrophie kommen.

Der PNPO-Mangel führt durch einen autosomal rezessiv vererbten Enzymdefekt im endogenen Vitamin B6-Stoffwechsel zu einer reduzierten Bildung von PLP (**Abbildung 1**). Erniedrigte PLP-Konzentrationen im Liquor und abnorme Neurotransmitterprofile stellen die gemeinsame Endstrecke des PNPO sowie des Antiquitinmangels dar und erlauben keine differenzialdiagnostische Unterscheidung. 2005 wurde der genetische Hintergrund des PNPO-Mangels in der Umwandlung von Pyridoxin und Pyridoxamin in den einzigen aktiven Kofaktor, PLP, molekulargenetisch erkannt [25]. Das PNPO-Protein ist auch für das intrazelluläre Recycling

von PLP und den intrazellulären Transport von PLP-Enzymkomplexen zuständig [26]. Im Gegensatz zum Antiquitinmangel entsteht beim PNPO-Mangel ein systemischer PLP-Mangel mit Anämie und Gedeihstörung, sofern die Patienten unbehandelt die Neugeborenenperiode überleben. Ein erhöhtes Vanillactat im Urin durch verminderte Funktion der aromatischen Aminosäuredecarboxylase ist unspezifisch und aufgrund der inkonstanten Erhöhung nicht zuverlässig. Damit hat der PNPO-Mangel im Gegensatz zu den anderen Vitamin B6-abhängigen Epilepsien keinen zuverlässigen Biomarker. Bei einzelnen Patienten mit PNPO-Mangel wurde jedoch im Vitamin B6-Plasma-Profil eine deutlich erhöhte Konzentration von Pyridoxamin gefunden [27]. Diese Erhöhung ist vor aber auch unter Therapie mit PLP verwertbar. Wir haben daher am Kinderspital Zürich die Bestimmung des Vitamin B6-Plasma-Profiles etabliert und können diese zur Diagnostik des PNPO-Mangels anbieten.

Patienten mit klassischem PNPO-Mangel benötigen eine lebenslange Therapie mit PLP, 30 bis 60 mg/kg/Tag in 4 - 6 Einzeldosen. Ähnlich dem Antiquitinmangel kann die erste Dosis zu schweren Apnoen und passagegerem Koma führen. Die Ursache dieser Reaktion ist weiterhin unklar. Patienten mit PNPO-Mangel sind häufig sehr sensibel auf das Einhalten der Dosisintervalle und zeigen häufig Anfallsrezidive. Da Riboflavin als Kofaktor des PNPO-Enzyms wirkt, kann evtl. ein zusätzlicher Therapieversuch mit Riboflavin (Vitamin B2), 200 mg/Tag erfolgen (cave: verursacht starke Gelbfärbung des Harns). Bei Mutationen, welche zu keiner Bildung eines aktiven PNPO-Proteins führen, ist dieser Versuch sinnlos. Ausserhalb von Asien ist PLP nur als nicht registrierte Substanz (Chemikalie) erhältlich.

Das Nebenwirkungsprofil von PLP unterscheidet sich ganz wesentlich von jenem von Pyridoxin. Gemäss jüngsten Berichten über zwei Patienten kann die Langzeitanwendung von PLP in hohen Dosen um 100 mg/kg/Tag zu Leberfibrose und sogar Leberzirrhose führen [24, 28]. Dies könnte durch eine Oxidation von PLP vor Verabreichung begünstigt werden. PLP soll daher unmittelbar vor oraler Verabreichung aufgelöst werden.

Pyridoxin-responsive PNPO-Mutationen

2014 wurden in zwei unabhängigen Publikationen insgesamt 17 Patienten mit Pyridoxin responsiven PNPO-Mutationen beschrieben [24, 29]. Dabei handelt es sich durchwegs um PNPO Mutationen mit Restaktivität, sodass unter Pyridoxin eine vermehrte Bildung von PLP resultieren dürfte. Zusammengefasst war der Response auf Pyridoxin in dieser Gruppe häufig etwas verzögert und oft erst unter kontinuierlicher Anwendung im Lauf der Tage erkennbar. Unter den Pyridoxin-responsiven PNPO-Mutationen fand sich eine prävalente „founder“-Mutation (R225H) aus dem Kosovo. Aktuell sind am Kinderspital St. Gallen drei Patienten

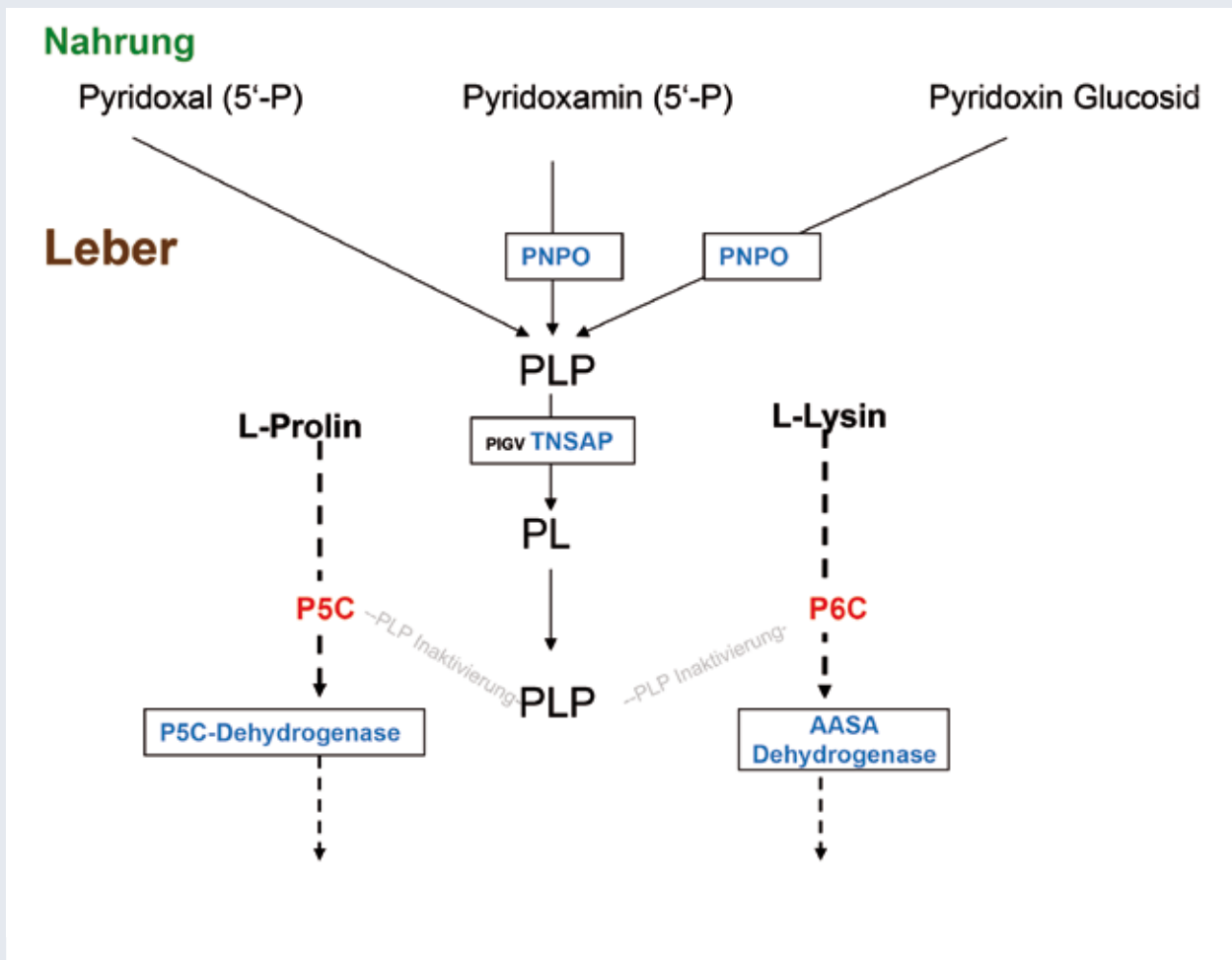


Abbildung 1: Vitamin B6 wird aus der Nahrung in Form dreier unterschiedlicher Vitamere, Pyridoxal, Pyridoxamin und Pyridoxin, und deren Phosphorester aufgenommen. In der Leber werden Pyridoxamin und Pyridoxin durch das Enzym Pyridox(am) in 5'-Phosphat-Oxidase (PNPO) in den einzigen aktiven Kofaktor, Pyridoxal 5'-Phosphat (PLP) umgewandelt. Die Aufnahme in die Zelle erfolgt in de-phosphorylierter Form durch Wirkung der gewebsunspezifischen alkalischen Phosphatase („tissue non specific alkaline phosphatase TNSALP“). PLP dient als Kofaktor in > 140 Enzymreaktionen im Aminosäure- und Neurotransmitterstoffwechsel. Beim PNPO-Mangel kommt es zu einer verminderten Bildung von PLP, beim TNSALP-Mangel (kongenitale Hypophosphatasie) zu einer verminderten Aufnahme von PLP in die Zelle. Beim Antiquitinmangel sowie der Hyperprolinämie kommt es durch anstauende Stoffwechselprodukte zur Inaktivierung von PLP.

und am Kinderspital Bern ein Patient mit Pyridoxin-responsiven PNPO-Mutationen in Betreuung. Interessanterweise wurde von Levtova et al. bei einem Patienten mit Homozygotie für diese Mutation vor Therapiebeginn ein normaler PLP-Spiegel im Liquor gemessen [22]. Dies unterstreicht die Rolle des PNPO-Proteins im Recycling und intrazellulären Targeting von PLP. Die Umstellung auf PLP führte bei zwei nicht verwandten Patienten aus dieser Gruppe zu einem Status epilepticus und sollte daher nur bei mangelnder Anfallsfreiheit und schrittweise versucht werden. Der Mechanismus dieser paradoxen Reaktion ist aktuell unklar; bei langsamem Vorgehen über Wochen scheint ein erfolgreiches Umstellen möglich [30].

Mills et al. diskutieren in ihrer Studie [24] auch PNPO-Gen-Polymorphismen mit hoher Restaktivität als Suszeptibilitätsgen für Epilepsie im Allgemeinen.

Dies deckt sich mit Erkenntnissen aus GWAS-Studien, welche eine klare Assoziation der Epilepsie zu dem Locus 17q21.32 in allernächster Nachbarschaft zum PNPO-Gen erbrachten (nahe rs72823592).

Patienten mit Pyridoxin-responsiven PNPO-Mutationen sollen, sofern anfallsfrei, mit Pyridoxin-Monotherapie weitergeführt werden. Dabei können die notwendigen Dosierungen zum Erhalt der Anfallsfreiheit etwas höher liegen als beim Antiquitinmangel und eine Aufteilung in mehrere Einzeldosen sowie regelmässige Dosisintervalle erfordern.

Pyridoxin versus PLP

Bei ätiologisch unklaren, therapieresistenten Anfällen sollte vom Neugeborenen bis zum frühen Kleinkindalter ein standardisierter Vitamin B6-Versuch erfolgen. In Anbetracht der grösseren Häufigkeit des Antiquitinmangels gegenüber dem PNPO-Mangel sowie Berichten über die potenzielle Lebertoxizität von PLP sollte für diesen standardisierten Vitamin B6-Versuch in erster Linie Pyridoxin zur Anwendung kommen. Der Pyridoxintest sollte beim Neugeborenen mit einer Dosis von 30 mg/kg/Tag in 2 - 3 Einzeldosen über 3 aufeinanderfolgende Tage, i.v. oder fakultativ p.o. durchgeführt werden. Bei fehlender Wirksamkeit sollte individuell nach 24 - 72 h eine Zusatztherapie mit Folinäure, 3 - 5 mg/kg/Tag als Einzeldosis, oder ein Wechsel zu PLP 40 - 60 mg/kg/Tag in 4 - 6 Einzeldosen erwogen werden.

PNPO-Patienten, welche unter Pyridoxin anfallsfrei sind, sollten nicht auf PLP umgestellt werden. Bei mangelnder Anfallsfreiheit unter Pyridoxin und gesichertem PNPO-Mangel sollte ein langsames, schrittweises Umstellen auf PLP über 3 - 4 Wochen erfolgen.

Referenzen

- Hunt AD, Jr, Stokes J, Jr, Mc Crory, Stroud HH. Pyridoxine dependency: report of a case of intractable convulsions in an infant controlled by pyridoxine. *Pediatrics* 1954; 13: 140-145
- Gospe SM, Jr. Pyridoxine-Dependent Epilepsy. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH et al. (eds): *Titel des Buches?* Seattle WA: GeneReviews(R), 1993
- Plecko B, Stockler S. Vitamin B6 dependent seizures. *Can J Neurol Sci* 2009; 36(Suppl 2): S73-77
- Schmitt B, Baumgartner M, Mills PB et al. Seizures and paroxysmal events: symptoms pointing to the diagnosis of pyridoxine-dependent epilepsy and pyridoxine phosphate oxidase deficiency. *Dev Med Child Neurol* 2010; 52: e133-142
- Mills PB, Footitt EJ, Mills KA et al. Genotypic and phenotypic spectrum of pyridoxine-dependent epilepsy (ALDH7A1 deficiency). *Brain* 2010; 133: 2148-2159
- Bok LA, Maurits NM, Willemsen MA et al. The EEG response to pyridoxine-IV neither identifies nor excludes pyridoxine-dependent epilepsy. *Epilepsia* 2010; 51: 2406-2411
- Stockler S, Plecko B, Gospe SM, Jr, et al. Pyridoxine dependent epilepsy and antiquitin deficiency: clinical and molecular characteristics and recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Mol Genet Metab* 2011; 104: 48-60
- Mills PB, Struys E, Jakobs C et al. Mutations in antiquitin in individuals with pyridoxine-dependent seizures. *Nat Med* 2006; 12: 307-309
- Plecko B, Paul K, Paschke E et al. Biochemical and molecular characterization of 18 patients with pyridoxine-dependent epilepsy and mutations of the antiquitin (ALDH7A1) gene. *Hum Mutat* 2007; 28: 19-26
- Struys EA, Nota B, Bakkali A et al. Pyridoxine-dependent epilepsy with elevated urinary alpha-amino adipic semialdehyde in molybdenum cofactor deficiency. *Pediatrics* 2012; 130: e1716-1719
- Mefford HC, Zemel M, Geraghty E et al. Intragenic deletions of ALDH7A1 in pyridoxine-dependent epilepsy caused by Alu-Alu recombination. *Neurology* 2015; 85: 756-762
- van Karnebeek CD, Hartmann H, Jaggamantri S et al. Lysine restricted diet for pyridoxine-dependent epilepsy: first evidence and future trials. *Mol Genet Metab* 2012; 107: 335-344
- van Karnebeek CD, Stockler-Ipsiroglu S, Jaggamantri S et al. Lysine-restricted diet as adjunct therapy for pyridoxine-dependent epilepsy: The PDE Consortium Consensus Recommendations. *JIMD Rep* 2014; 15: 1-11
- Coughlin CR, 2nd, van Karnebeek CD, Al-Hertani W et al. Triple therapy with pyridoxine, arginine supplementation and dietary lysine restriction in pyridoxine-dependent epilepsy: Neurodevelopmental outcome. *Mol Genet Metab* 2015; 116: 35-43
- Gallagher RC, Van Hove JL, Scharer G et al. Folinic acid-responsive seizures are identical to pyridoxine-dependent epilepsy. *Ann Neurol* 2009; 65: 550-556
16. Plecko B. Epilepsie bei metabolischen Enzephalopathien. *Epileptologie* 2013; 30: 49-60
- Whyte MP. Hypophosphatasia – aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol* 2016; 12: 233-246
- Mitsubuchi H, Nakamura K, Matsumoto S, Endo F. Biochemical and clinical features of hereditary hyperprolinemia. *Pediatr Int* 2014; 56: 492-496
- Farrant RD, Walker V, Mills GA et al. Pyridoxal phosphate de-activation by pyrroline-5-carboxylic acid – Increased risk of vitamin B-6 deficiency and seizures in hyperprolinemia type II. *J Biol Chem* 2001; 276: 15107-15116
- Reid ES, Williams H, Stabej PL et al. Seizures due to a KCNQ2 mutation: Treatment with vitamin B. *JIMD Rep* 2015; Oct 8 Epub ahead of print
- Clayton PT. B6-responsive disorders: a model of vitamin dependency. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29: 317-326
- Levtova A, Camuzeaux S, Laberge AM et al. Normal cerebrospinal fluid pyridoxal 5'-phosphate level in a PNPO-deficient patient with neonatal-onset epileptic encephalopathy. *JIMD Rep* 2015; 22: 67-75
- Porri S, Fluss J, Plecko B et al. Positive outcome following early diagnosis and treatment of pyridoxal-5'-phosphate oxidase deficiency: a case report. *Neuropediatrics* 2014; 45: 64-68
- Mills PB, Camuzeaux SSM, Footitt EJ et al. Epilepsy due to PNPO mutations: genotype, environment and treatment affect presentation and outcome. *Brain* 2014; 137: 1350-1360
- Mills PB, Surtees RA, Champion MP et al. Neonatal epileptic encephalopathy caused by mutations in the PNPO gene encoding pyridox(am)ine 5'-phosphate oxidase. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 1077-1086
- Musayev FN, Di Salvo ML, Saavedra MA et al. Molecular basis of reduced pyridoxine 5'-phosphate oxidase catalytic activity in neonatal epileptic encephalopathy disorder. *J Biol Chem* 2009; 284: 30949-30956
- Footitt EJ, Clayton PT, Mills K et al. Measurement of plasma B6 vitamers profiles in children with inborn errors of vitamin B6 metabolism using an LC-MS/MS method. *J Inherit Metab Dis* 2013; 36: 139-145
- Sudarsanam A, Singh H, Wilcken B et al. Cirrhosis associated with pyridoxal 5'-phosphate treatment of pyridoxamine 5'-phosphate oxidase deficiency. *JIMD Rep* 2014; 17: 67-70
- Plecko B, Paul K, Mills P et al. Pyridoxine responsiveness in novel mutations of the PNPO gene. *Neurology* 2014; 82: 1425-1433
- Ware TL, Earl J, Salomons GS et al. Typical and atypical phenotypes of PNPO deficiency with elevated CSF and plasma pyridoxamine on treatment. *Dev Med Child Neurol* 2014; 56: 498-502

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Barbara Plecko
Extraordinariat Neurologie
Univ. Kinderspital Zürich
Eleonorenstiftung
Universität Zürich
Steinwiesstrasse 75,
CH 8032 Zürich
Tel. 0041 44 266 73 30
Fax 0041 44 266 71 63
barbara.plecko@kispi.uzh.ch

The Michael Prize 2017

Awarded for the first time in 1963 to encourage epilepsy research in Germany, to date the MICHAEL PRIZE is one of the most highly regarded international awards for the best contributions to experimental and clinical research which promote further developments in epileptology.

The MICHAEL PRIZE is awarded biennially and is specifically addressed to younger researchers not older than 45 years of age.

The prize money is 20.000 Euro.

The MICHAEL PRIZE 2017 will be awarded for research in one of the following fields:

Clinical neurophysiology

- Neuropsychology, Psychology and Psychiatry
- Neuroimaging

For the MICHAEL PRIZE 2017 may be considered

- up to three scientific papers in English language which may be published or submitted for publication
- at least one of the papers, already published or not, must be from the period 2015 / 2016

The papers (publications or manuscripts) must be submitted to the STIFTUNG MICHAEL

before December 31, 2016

together with a curriculum vitae and with an indication which of the three eligible fields the applicant's research is referring to. Letters of support will not be considered.

For entry form and upload, please consult:
www.michael-foundation.de/michael-prize

The applications submitted will be rated by an independent jury consisting of:

- Heidrun Potschka, Munich / Germany
- Matthias Koepp, London / UK
- Yushi Inoue, Shizuoka / Japan

The final decision will be taken by the Board of Trustees of the Michael Foundation; legal recourse is excluded.

Since 2006, the MICHAEL PRIZE is kindly sponsored by UCB International

Stiftung Michael
Alsstr. 12
D – 53227 Bonn / Germany
E-mail: post@stiftung-michael.de
www.stiftung-michael.de