

KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR PHARMAKOKINETIK VON
THIAMINDERIVATEN

von

Thomas Frank

geboren am 10. November 1971 in Erfurt

Dem Rat der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegte Dissertation

Jena, Dezember 2000

Vorsitzender: Prof. Dr. B. Luckas, Jena

Berichter: Prof. Dr. R. Bitsch, Jena

Prof. Dr. G. Stein, Jena

Prof. Dr. H. Heseke, Paderborn

Tag der mündlichen Prüfung: 26.02.2001

Tag der öffentlichen Verteidigung: 19.03.2001

„Nihil est in intellectu, quod non sit prius in sensu.“

(THOMAS VON AQUIN)

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	III
TABELLENVERZEICHNIS.....	V
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	VIII
GLOSSAR.....	IX
THEORETISCHER TEIL.....	1
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 <i>Thiamin</i>	2
2.1.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften	3
2.1.2 Physiologie	6
2.1.3 Toxizität	10
2.1.4 Pharmakokinetik	11
2.2 <i>Besonderheiten des S-Benzoylthiamin-O-monophosphats</i>	14
2.2.1 Vitaminwirksamkeit.....	14
2.2.2 Physiologie	15
2.2.3 Pharmakokinetik	16
2.3 <i>Implikationen der chronischen Niereninsuffizienz für die Pharmakokinetik von Thiamin</i>	19
2.3.1 Auswirkungen der chronischen Niereninsuffizienz auf den Thiaminstatus	19
2.3.2 Auswirkungen der chronischen Niereninsuffizienz auf die Pharmakokinetik von Thiamin.....	22
2.4 <i>Methodische Überlegungen zur Analytik</i>	23
2.4.1 Nachweis und Quantifizierung des Thiamins im Blut.....	23
2.4.2 Transketolaseaktivität	24
2.4.3 Bestimmung des TDP-Gehaltes in den Erythrozyten	25
3 ABLEITUNG DER ZIELE DER ARBEIT	25
KLINISCH-EXPERIMENTELLER TEIL.....	28
4 PHARMAKOKINETIK VON THIAMINDERIVATEN BEI PATIENTEN MIT TERMINALER NIERENINSUFFIZIENZ	28
4.1 <i>Material und Methoden</i>	28
4.1.1 Studiendesign.....	28
4.1.1.1 Patientenauswahl	28
4.1.1.2 Aufklärung, Einwilligung und Votum der Ethikkommission	29
4.1.1.3 Einzelverlauf der klinischen Studie	30
4.1.2 Analytische Methoden	31
4.1.2.1 Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....	32
4.1.2.2 Aktivität der erythrozytären Transketolase (ETKA/ α -ETK).....	40
4.1.3 Pharmakokinetische Methoden.....	43
4.1.3.1 Kompartiment-unabhängige Analyse	43
4.1.3.2 Kompartimentgebundene Analyse.....	45
4.1.4 Statistische Methoden	49
4.2 <i>Ergebnisse</i>	50
4.2.1 Konzentrations-Zeit-Verläufe des Thiamins und Thiaminphosphatester im Blut... 50	
4.2.1.1 Basiswerte im Vollblut und Plasma.....	50

4.2.1.2	Konzentrations-Zeit-Verlauf im Vollblut	51
4.2.1.3	Konzentrations-Zeit-Verlauf im Plasma	54
4.2.2	Thiaminausscheidung im Urin.....	56
4.2.3	Erythrozytäre TDP-Konzentration und Transketolaseaktivität.....	58
4.2.4	Ergebnisse der kompartiment-unabhängigen pharmakokinetischen Berechnungen.....	61
4.2.5	Ergebnisse der kompartimentgebundenen pharmakokinetischen Berechnungen ...	63
4.2.5.1	Anpassungsparameter.....	63
4.2.5.2	Verteilungsvolumina, mittlere Verweildauer der Substanzen und AUC.....	66
4.2.5.3	System- und Massenflussparameter	67
4.3	<i>Diskussion</i>	69
5	BIOVERFÜGBARKEIT VON THIAMIN BEI VERSCHIEDENEN NIERENERSATZTHERAPIEN.....	83
5.1	<i>Material und Methoden</i>	83
5.1.1	Studiendesign.....	83
5.1.1.1	Patientenauswahl	83
5.1.1.2	Aufklärung, Einwilligung und Votum der Ethikkommission	83
5.1.1.3	Einzelverlauf der klinischen Studie	84
5.1.2	Analytische Methoden	85
5.1.3	Statistische Methoden	86
5.2	<i>Ergebnisse</i>	87
5.2.1	Thiaminstatus in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Grad der Niereninsuffizienz.....	87
5.2.2	Einfluss der Dialysebehandlung auf den Thiaminstatus.....	96
5.3	<i>Diskussion</i>	103
6	RELATIVE BIOVERFÜGBARKEIT VON BENFOTIAMIN IM LIQUOR CEREBROSPINALIS.....	112
6.1	<i>Material und Methoden</i>	112
6.1.1	Studiendesign.....	112
6.1.1.1	Patientenauswahl	112
6.1.1.2	Aufklärung, Einwilligung und rechtliche Regelungen	113
6.1.1.3	Einzelverlauf der Studie	113
6.1.2	Analytische Methoden	114
6.1.3	Pharmakokinetische Methoden.....	114
6.1.4	Statistische Methoden	117
6.2	<i>Ergebnisse</i>	117
6.2.1	Basiswerte in Vollblut, Plasma und Liquor	117
6.2.2	Konzentrations-Zeit-Verläufe in Vollblut, Plasma und Liquor	120
6.2.3	Pharmakokinetische Berechnungen	125
6.3	<i>Diskussion</i>	126
	ZUSAMMENFASSUNG.....	135
7	ZUSAMMENFASSUNG DES KLINISCH-EXPERIMENTELLEN TEILS	135
	LITERATURVERZEICHNIS	140
	ANHANG	149

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

	<i>Seite</i>
Abb. 2-1 Thiazol- und Thiolstruktur des Thiamins.....	3
Abb. 2-2 Arzneilich verwendete Thiaminsalze.....	3
Abb. 2-3 Systematik lipophiler Thiaminderivate.....	4
Abb. 2-4 Arzneilich verwendete synthetische Thiaminderivate.....	5
Abb. 4-1 Arbeitsdiagramm für die Bestimmung von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern mittels HPLC in biologischen Matrices	34
Abb. 4-2 Regressionsgerade des Thiamins und seiner Phosphorsäureester.....	37
Abb. 4-3 Ermittlung der Bestimmungsgrenze nach den Kriterien des Arbeitskreis Eurachem/D ..	40
Abb. 4-4 Variation der ETKA in einer Charge von Tag zu Tag (Lagerung bei -80°C).....	42
Abb. 4-5 Einfluss der Lagertemperatur auf die ETKA	42
Abb. 4-6 Mehrkompartiment-Modell mit Submodellen.....	46
Abb. 4-7 Histogramm der Thiaminkonzentration im Plasma (links) und Vollblut (rechts) vor Applikation der Prüfmedikation.....	51
Abb. 4-8 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (Mittelwert \pm SD) nach oraler Gabe von $214\ \mu\text{mol}$ BTMP.....	52
Abb. 4-9 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (Mittelwert \pm SD) nach oraler Gabe von $327\ \mu\text{mol}$ T-NO ₃	54
Abb. 4-10 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin, TMP und Thiamin ^Σ im Plasma (Mittelwert \pm SD) nach oraler Gabe von $214\ \mu\text{mol}$ BTMP.....	55
Abb. 4-11 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin, TMP und Thiamin ^Σ im Plasma (Mittelwert \pm SD) nach oraler Gabe von $327\ \mu\text{mol}$ T-NO ₃	56
Abb. 4-12 Mittlere Summenausscheidung des Gesamtthiamins (Thiamin ^Σ) im 24-h-Urin nach Applikation von BTMP (links) und T-NO ₃ (rechts)	56
Abb. 4-13 Mittlere Thiamin ^Σ -Konzentration in den Urinfraktionen nach Gabe von BTMP (links) und T-NO ₃ (rechts)	57
Abb. 4-14 Thiamin- und TMP-Ausscheidung im 24-h-Urin am Belastungstag nach Applikation der Prüfmedikation.....	57
Abb. 4-15 Histogramm der erythrozytären TDP-Konzentration vor Applikation der Prüfmedikation.....	58
Abb. 4-16 ETKA und α -ETK in Abhängigkeit von der erythrozytären TDP-Konzentration vor Applikation der Prüfmedikation.....	59
Abb. 4-17 α -ETK in Abhängigkeit von der absoluten ETKA (links) und erythrozytäre TDP- Konzentration in Abhängigkeit von korrespondierenden Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma (rechts) vor Applikation der Prüfmedikation.....	59
Abb. 4-18 α -ETK in Abhängigkeit vom erythrozytären TDP-Gehalt nach oraler Gabe von BTMP (links) und T-NO ₃ (rechts).....	61
Abb. 4-19 Individuelle Anpassung der Nüchternwert-bereinigten Konzentrations-Zeit-Verläufe an das Mehrkompartiment-Modell nach Gabe von BTMP.....	64
Abb. 4-20 Individuelle Anpassung der Nüchternwert-bereinigten Konzentrations-Zeit-Verläufe an das Mehrkompartiment-Modell nach Gabe von T-NO ₃	65
Abb. 4-21 Anpassung des mittleren Nüchternwert-bereinigten Konzentrations-Zeit-Verlaufs an das Mehrkompartiment-Modell nach Gabe von BTMP (links) bzw. Thiaminnitrat (rechts).....	68
Abb. 4-22 Fiktiver Konzentrations-Zeit-Verlauf im Gewebe bei Annahme von $V_D = 0,6\ \text{l/kg}$	69
Abb. 4-23 Studienvergleich der Thiamin ^Σ -Konzentration im Blut nach oraler Gabe von BTMP (oben) und Thiaminsalzen (unten).....	72
Abb. 4-24 Dosisproportionale Resorption des BTMP anhand der AUC von Thiamin ^Σ im Blut.....	73

Abb. 4-25	Bildung von TDP nach Gabe von BTMP bei ESRD-Patienten im Vergleich zu Gesunden.....	74
Abb. 5-1	Studiendesign	84
Abb. 5-2	Histogramm der Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma (links) und α-ETK (rechts).....	93
Abb. 5-3	Histogramm der Thiamin ^Σ -Konzentration im 24-h-Urin (links) und der durchschnittlichen Thiaminzufuhr (rechts).....	94
Abb. 5-4	Einfluss der Dialysebehandlung auf die Thiaminkonzentration im Plasma (links) und α-ETK (rechts).....	97
Abb. 5-5	Einfluss der Dialysebehandlung auf die Thiaminausscheidung im Urin	97
Abb. 6-1	Drei-Kompartiment-Modell mit Applikations- und Eliminationskompartiment.....	115
Abb. 6-2	Histogramm der physiologischen Thiaminkonzentration im Liquor (links) und Plasma (rechts) vor Applikation der Prüfmedikation (N=20).....	117
Abb. 6-3	Histogramm der physiologischen Thiaminkonzentration im Vollblut vor Applikation der Prüfsubstanzen (N=20).....	118
Abb. 6-4	Beziehungen zwischen der Thiamin- (links) und TMP-Konzentration (rechts) im Plasma und den korrespondierenden Konzentrationen im Liquor bei 20 Patienten mit neurologischen Erkrankungen verschiedener Genese	119
Abb. 6-5	Beziehung zwischen der Thiamin ^Σ - Konzentration im Plasma und der korrespondierenden Konzentration im Liquor bei 20 Patienten mit neurologischen Erkrankungen verschiedener Genese.....	120
Abb. 6-6	Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut nach oraler Gabe von 321 μmol BTMP.....	120
Abb. 6-7	Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut nach i.m. Applikation von 296 μmol T-HCl.....	121
Abb. 6-8	Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Plasma nach oraler Gabe von 321 μmol BTMP.....	122
Abb. 6-9	Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Plasma nach i.m. Applikation von 296 μmol T-HCl.....	122
Abb. 6-10	Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Liquor nach oraler Gabe von 321 μmol BTMP	123
Abb. 6-11	Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Liquor nach i.m. Applikation von 296 μmol T-HCl.....	124
Abb. 6-12	Simultane Anpassung des mittleren Konzentrations-Zeit-Verlaufs von Thiamin ^Σ im Plasma, Liquor und TDP im Vollblut an ein offenes Drei-Kompartiment-Modell.....	125
Abb. 6-13	Nebeneinander angeordnete Kompartimente	130

(siehe auch Abbildungen im Anhang)

TABELLENVERZEICHNIS

		<i>Seite</i>
Tabelle 2-1	Physikalisch-chemische Eigenschaften therapeutisch eingesetzter Thiaminderivate	5
Tabelle 2-2	LD ₅₀ -Werte (Maus) von Thiaminchloridhydrochlorid (T-HCl) und verschiedenen lipophilen Thiaminderivaten.....	10
Tabelle 2-3	Triphasische Elimination des Gesamtthiamins im Plasma bei gesunden Versuchspersonen nach Applikation von T-HCl, Median (Wertebereich)	12
Tabelle 2-4	Pharmakokinetische Parameter von Gesamtthiamin im Vollblut gesunder Probanden nach verschiedenen Dosen von TTFD.....	13
Tabelle 2-5	Durchschnittlicher Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin im Vollblut (ng/ml) nach Verabreichung verschiedener Dosen BTMP und T-HCl im Vollblut von 12 Patienten	16
Tabelle 2-6	Verteilungsvolumen und Eliminationskonstante (k_{el}) von Thiamin nach Umsatz aus Thiaminpropyldisulfid (TPD), Cyclocarbothiamin (CCT) und BTMP	17
Tabelle 2-7	Gesamtthiaminkonzentrationen im Plasma von ungesupplementierten gesunden Personen im Vergleich zu chronisch niereninsuffizienten Patienten (Mittelwert \pm SD bzw. Wertebereich).....	21
Tabelle 4-1	Prüfmedikation.....	28
Tabelle 4-2	Anthropometrische Charakteristika und klinische Daten der Studienteilnehmer ($N=20$).....	29
Tabelle 4-3	Zeitablauf der klinischen Prüfung	30
Tabelle 4-4	Chromatographische Bedingungen für die Bestimmung von Thiamin, TMP, TDP und TTP	32
Tabelle 4-5	Gradienten-Elutionsprofil zur Trennung von Thiamin, TMP, TDP und TTP	33
Tabelle 4-6	Stabilität von TDP im Vollblut und Standardlösungen bei verschiedenen Temperaturen.....	35
Tabelle 4-7	Ergebnisse der Methodvalidierung: Variation der Peakfläche einer Standardlösung von Tag zu Tag	38
Tabelle 4-8	Ergebnisse der Methodvalidierung: Variation der Thiaminkonzentration in einer Vollblutprobe von Tag zu Tag.....	38
Tabelle 4-9	Ergebnisse der Methodvalidierung: Wiederfindungsrate unter dem Einfluss verschiedener Probenmatrizes	39
Tabelle 4-10	Variation der ETKA innerhalb einer Messserie.....	41
Tabelle 4-11	Variation der ETKA von Tag zu Tag.....	41
Tabelle 4-12	Pharmakokinetische Parameter und ihre Bedeutung.....	45
Tabelle 4-13	Basiswerte von Thiamin, TMP, TDP und Gesamtthiamin im Vollblut und Plasma.....	50
Tabelle 4-14	Mittlere Konzentrationen von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (ng/ml) nach oraler Gabe von BTMP, $N = 10$	51
Tabelle 4-15	Mittlere Konzentrationen von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (ng/ml) nach oraler Gabe von T-NO ₃ , $N = 10$	53
Tabelle 4-16	Mittlere Konzentrationen von Thiamin, TMP und Thiamin ^Σ im Plasma (ng/ml) nach oraler Gabe von BTMP, $N = 10$	54
Tabelle 4-17	Mittlere Konzentrationen von Thiamin, TMP und Thiamin ^Σ im Plasma (ng/ml) nach oraler Gabe von T-NO ₃ , $N = 10$	55
Tabelle 4-18	TDP-Konzentration in den Erythrozyten und Aktivität der erythrozytären Transketolase vor Applikation, zum Zeitpunkt t_{max} sowie 10 und 24 h nach Applikation der Prüfmedikation, Mittelwert \pm SD (95%-Konfidenzintervall des Mittelwertes)	60

Tabelle 4-19	Pharmakokinetische Parameter von Thiamin ^Σ im Vollblut, Mittelwert ± SD (95%-Konfidenzintervall des Mittelwertes).....	62
Tabelle 4-20	Pharmakokinetische Parameter von Thiamin ^Σ im Plasma, Mittelwert ± SD (95%-Konfidenzintervall des Mittelwertes).....	62
Tabelle 4-21	Orale und renale Clearance von Thiamin ^Σ , Mittelwert ± SD (95%-Konfidenzintervall des Mittelwertes).....	63
Tabelle 4-22	Bestimmtheitsmaß der linearen Regression.....	63
Tabelle 4-23	Verteilungsvolumina, MRT und AUC.....	66
Tabelle 4-24	Systemparameter mit zugehörigen Halbwertszeiten und Massenflussparameter.....	67
Tabelle 4-25	Pharmakokinetische Parameter nach Anpassung der Mittelwertkurve.....	68
Tabelle 4-26	Vergleich der Thiamin-Basiswerte im Blut (ng/ml).....	71
Tabelle 4-27	Pharmakokinetische Parameter von TDP im Blut nach Gabe von Thiaminpräparaten bei Gesunden und ESRD-Patienten (Mittelwert und 95%-Konfidenzintervall).....	75
Tabelle 5-1	Anthropometrische Charakteristika und klinische Daten der Studienteilnehmer, Median (Wertebereich).....	83
Tabelle 5-2	Thiaminstatus in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Thiaminaufnahme bei CRF-Patienten im Stadium der kompensierten Retention.....	87
Tabelle 5-3	Haupteffekte bei CRF-Patienten.....	88
Tabelle 5-4	Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma, α-ETK und Thiamin ^Σ -Ausscheidung in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminaufnahme bei Transplantatempfängern.....	88
Tabelle 5-5	Haupteffekte und Faktorwechselwirkungen bei Transplantatempfängern.....	89
Tabelle 5-6	Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma, α-ETK und Thiamin ^Σ -Ausscheidung in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminaufnahme bei HD-Patienten mit 1,5 mg T-HCl p.o./Dialysebehandlung.....	89
Tabelle 5-7	Haupteffekte und Faktorwechselwirkungen bei HD-Patienten mit 1,5 mg T-HCl p.o.....	90
Tabelle 5-8	Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma, α-ETK und Thiamin ^Σ -Ausscheidung in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminaufnahme bei HD-Patienten mit 8,0 mg T-HCl p.o./Dialysebehandlung.....	91
Tabelle 5-9	Haupteffekte und Faktorwechselwirkungen bei HD-Patienten mit 8,0 mg T-HCl p.o.....	91
Tabelle 5-10	Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma, α-ETK und Thiamin ^Σ -Ausscheidung in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminaufnahme bei un-supplementierten HD-Patienten.....	92
Tabelle 5-11	Haupteffekte und Faktorwechselwirkungen bei un-supplementierten HD-Patienten... ..	92
Tabelle 5-12	Prävalenzen eines niedrigen Thiaminstatus, eingeschätzt anhand von α-ETK.....	93
Tabelle 5-13	Indikatoren des Thiaminstatus bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (CRF), Transplantatempfängern (RT) und Hämodialysepatienten (DP), Mittelwert ± SD.....	95
Tabelle 5-14	Gesamtenergiezufuhr und relative Thiaminzufuhr der Studienteilnehmer, Mittelwert ± SD.....	95
Tabelle 5-15	Korrelationen (Signifikanz) zwischen der durchschnittlichen täglichen Thiaminzufuhr, Gesamtenergiezufuhr und Indikatoren des Thiaminstatus.....	96
Tabelle 5-16	Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma, α-ETK und 24-h-Urinausscheidung von Thiamin ^Σ vor und nach der Dialysebehandlung sowie vor Beginn der zweiten Dialysebehandlung bei Patienten, die mit 1,5 mg T-HCl supplementiert wurden, Mittelwert ± SD.....	98

Tabelle 5-17	Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma, α-ETK und 24-h-Urinausscheidung von Thiamin ^Σ vor und nach der Dialysebehandlung sowie vor Beginn der zweiten Dialysebehandlung bei Patienten, die mit 8,0 mg T-HCl supplementiert wurden, Mittelwert ± SD.....	98
Tabelle 5-18	Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma, α-ETK und 24-h-Urinausscheidung von Thiamin ^Σ vor und nach der Dialysebehandlung sowie vor Beginn der zweiten Dialysebehandlung bei unsupplementierten Patienten, Mittelwert ± SD.....	98
Tabelle 5-19	Einfluss der wöchentlichen Behandlungshäufigkeit, Dauer der Einzelbehandlung, Blutflussrate und Art der verwendeten Dialysemembran auf die Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma und α-ETK bei Dialysepatienten, die mit 1,5 mg T-HCl supplementiert wurden.....	99
Tabelle 5-20	Einfluss der Behandlungsdauer, Blutflussrate und Art der verwendeten Dialysemembran auf die Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma und α-ETK bei Dialysepatienten, die mit 8,0 mg T-HCl supplementiert wurden.....	100
Tabelle 5-21	Einfluss der wöchentlichen Behandlungshäufigkeit, Dauer der Einzelbehandlung, Blutflussrate und Art der verwendeten Dialysemembran auf die Thiamin ^Σ -Konzentration im Plasma und α-ETK bei unsupplementierten Dialysepatienten.....	102
Tabelle 6-1	Prüfmedikation.....	112
Tabelle 6-2	Organisationsschema zur Probengewinnung.....	114
Tabelle 6-3	Basiswerte von Thiamin, TMP, TDP, TTP und Gesamthiamin in Vollblut, Plasma und Liquor.....	118
Tabelle 6-4	Mittlere Konzentrationen (Standardabweichung) von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (ng/ml).....	121
Tabelle 6-5	Mittlere Konzentrationen (Standardabweichung) von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Plasma (ng/ml).....	123
Tabelle 6-6	Mittlere Konzentrationen (Standardabweichung) von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Liquor (ng/ml).....	124
Tabelle 6-7	Systemparameter mit zugehörigen Halbwertszeiten und Massenflussparameter.....	125
Tabelle 6-8	Pharmakokinetische Parameter.....	126
Tabelle 6-9	Vergleich physiologischer Thiaminkonzentrationen im Liquor (ng/ml).....	126

(siehe auch Tabellen im Anhang)

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AMG Arzneimittelgesetz	k_{el} Eliminationskonstante
ATP Adenosintriphosphat	k_{ij} Geschwindigkeitskonstanten
AUC Fläche unter der Blut-/Plasmaspiegelkurve (<i>engl.</i> area under the curve)	λ_z terminale Eliminationskonstante
AWB Anwendungsbeobachtung	M_r relative Molekülmasse
α-ETK Aktivitätskoeffizient aus stimulierter und unstimulierter ETKA	MRT mittlere Verweildauer der Substanzen (<i>engl.</i> mean residence time)
B Bestimmtheitsmaß, Anpassungskriterium der Messreihen	NAD(H) (reduziertes) Nikotinamid-adenin-dinukleotid
BMI Body mass index	NADP(H) (reduziertes) Nicotinamid-adenin-dinukleotid-phosphat
BTMP <i>S</i> -Benzoylthiamin- <i>O</i> -monophosphat (Benfotiamin)	p.o. per os
b_i Systemparameter	QB Blutflussrate
C₀ fiktive Anfangskonzentration (extrapolierter Schnittpunkt mit der Ordinate zum Zeitpunkt 0)	QD Dialysatflussrate
C_{max} Maximale Blut-/Plasmakonzentration	RT Nierentransplantation (<i>engl.</i> renal transplantation)
CL_R Renale Clearance	SBT <i>S</i> -Benzoylthiamin
CL_{oral} Orale Clearance	SD Standardabweichung
CRF chronische Niereninsuffizienz (<i>engl.</i> chronic renal failure)	Scr Serum-Kreatinin
df Freiheitsgrade	S1-S3 Submodelle, Dispositionsräume
ESRD terminale Niereninsuffizienz (<i>engl.</i> end-stage renal disease)	TDP Thiamindiphosphat, entspr. TPP (Thiaminpyrophosphat)
ETK(A) (Aktivität) der erythrozytären Transketolase (EC 2.2.1.1)	TDS Thiamindisulfid
F relative Bioverfügbarkeit	T-HCl Thiaminchloridhydrochlorid
GFR glomeruläre Filtrationsrate	t_{lag,1} Zeit zwischen Administration und Erscheinen des Wirkstoffs/Metaboliten in der systemischen Zirkulation
HD Hämodialyse	t_{max} Zeitpunkt der maximalen Blut-/Plasmakonzentration
HPLC Hochdruckflüssigkeitschromatographie	TMP Thiaminmonophosphat
i.m. intramuskulär	T-NO₃ Thiaminnitrat
i.v. intravenös	TTFD Thiamintetrahydrofurfuryldisulfid (Fursultiamin)
KG Körpergewicht	TTP Thiamintriphosphorsäureester (Thiamintriphosphat)
k_a Absorptionskonstante	V_D scheinbares Verteilungsvolumen
	V.K. Variationskoeffizient

GLOSSAR

Anwendungsbeobachtungen (AWB) sind Beobachtungsstudien, die dazu bestimmt sind, Erkenntnisse bei der Anwendung verkehrsfähiger Arzneimittel zu sammeln. Ihr besonderes Charakteristikum ist die weitestgehende Nichtbeeinflussung des behandelnden Arztes in bezug auf Indikationsstellung sowie Wahl und Durchführung der Therapie im Einzelfall. Ziel ist die Beobachtung von Behandlungsmaßnahmen in der routinemäßigen Anwendung durch Arzt und Patient

Bioäquivalenz zwischen Arzneimitteln, die auch Salze oder Prodrugs des Arzneistoffes enthalten können, besteht dann, wenn unter gleichen experimentellen Bedingungen (einschließlich der gleichen Applikationsweise von Test und Referenz) die Bioverfügbarkeit nur innerhalb tolerierbarer Abweichungen differiert.

Biokinetik Konzentration eines körpereigenen Stoffes im Organismus in Abhängigkeit von der Zeit

Bioverfügbarkeit Die Bioverfügbarkeit eines Arzneimittels ist definiert durch Geschwindigkeit (rate) und Masse bzw. Ausmaß (extent), womit der Arzneistoff bzw. der wirksame Bestandteil in die systemische Zirkulation gelangt bzw. den Wirkort erreicht, nachdem der Arzneistoff in einer speziellen galenischen Form gegeben worden ist. Auf Nährstoffe übertragen wird darunter der Anteil eines Nähr- oder Wirkstoffes verstanden, der zur Aufrechterhaltung einer physiologischen Funktion oder Speicherung utilized wird.

Klinische Studie Die Unterscheidung zwischen klinischen und nicht-klinischen Studien bezieht sich im Kontext der vorliegenden Arbeit auf die Rekrutierungsart. Nicht-klinische Prüfungen von Arzneimitteln bestehen aus freiwilligen, für die betreffende Studie rekrutierten Probanden oder Probandinnen, während unter klinischen Prüfungen Probandengruppen zu verstehen sind, die im Rahmen therapeutischer Behandlungsprogramme rekrutiert werden.

Pharmakokinetik Verlauf der Konzentration eines Arzneimittels und/oder seiner(s) repräsentativen Metaboliten im zentralen Kompartiment in Abhängigkeit von der Zeit

Kapitel 1

THEORETISCHER TEIL

1 Einleitung

Die Pharmakokinetik basiert auf der Beschreibung zeitabhängiger Prozesse, die das Schicksal eines Arzneimittels und/oder seiner Metaboliten während deren Passage durch den Körper vom Zeitpunkt der Administration bis zum Zeitpunkt des Verschwindens kontrollieren. Das Ziel der modernen Pharmakokinetik ist deshalb die Analyse des gesamten Konzentrations-Zeit-Verlaufs einer arzneilich wirksamen Substanz bzw. eines oder mehrerer ihrer Schlüsselmetaboliten in geeigneten Körper-Kompartimenten (Heinzel et al., 1993). Somit stellt heute, da internationale Harmonisierungsbestrebungen auf dem Gebiet der Legislative beschleunigt werden, die Integration der Pharmakokinetik in die rationelle Entwicklung sicherer und effizienter Arzneimittel einen kritischen Schritt im Zulassungsprozess dar. Hierbei lassen sich die Aufgabenfelder pharmakokinetischer Forschung in folgenden Punkten zusammenfassen: (1) Die Bestimmung von Bioverfügbarkeit und Bioäquivalenz neuer Arzneimittel bzw. der im Handel befindlichen Grundsubstanzen, (2) die pharmakokinetische Charakterisierung neuer Arzneimittel und neuer Arzneimitteltransportsysteme, (3) die Festlegung von Dosierungsschemata, (4) die Bestimmung des kinetischen Profils von Arzneimitteln bei pathologischen Zuständen und (5) die dem entsprechende Anpassung der Dosierung (Cabana, 1976). Da die letzten beiden Punkte Untersuchungen an Patienten implizieren, werden Ansätze benötigt, die es unter ethisch akzeptablen Kriterien gestatten, die zentralen Fragen der Pharmakokinetik, die man bisher bei Vitaminen überwiegend durch Tierversuche, *in-vitro*- Tests oder mit markierten Substanzen zu klären versucht hat, mit Hilfe analog konstruierter Modelle schnell und präzise zu beantworten. Im Falle des Thiamins und seiner synthetischen Derivate, die seit langem in der Therapie von Neuropathien unterschiedlichster Genese angewendet werden, persistiert ein auffälliges Missverhältnis zwischen der Zahl der erschienenen Publikationen zur therapeutischen Effizienz einerseits (z.B. Woelk et al., 1998, Stracke et al., 1996, Sadekov et al., 1998, Simeonov et al., 1997, Winkler et al., 1999) und der pharmakokinetischen Charakterisierung andererseits. Obwohl Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Thiamin von entscheidender Bedeutung sind, wenn ein möglicher Therapieerfolg abgeschätzt werden soll, fehlen bisher entsprechende Untersuchungen an Patienten. Auch die im Arzneimittelgesetz festgelegte Überwachung von zugelassenen Arzneimitteln in Form von Anwendungsbeobachtungen mit klarer Befunddokumentation, die die Bedeutung des Arzneimittels

im Arzneischatz einschließlich seiner Risiken festlegen soll, ist für das Thiamin bzw. seine synthetischen Derivate noch nicht ausreichend erfolgt.

Infolge der stetig steigenden Lebenserwartung ist aus volkswirtschaftlicher Sicht die chronische, bis hin zur Dialysepflichtigkeit führende Niereninsuffizienz die bedeutendste Spätfolge des Diabetes mellitus in den Industrienationen (Berthoux et al., 1998, Frei und Schober-Halstenberg, 1998). In modernen Dialyseeinheiten werden die Patienten mit Thiaminpräparaten routinemäßig supplementiert, um dialysebedingten Thiaminverlusten vorzubeugen. Hierbei bestehen Kontroversen darüber, ob tatsächlich ein signifikanter Einfluss der heute gebräuchlichen, effizienten Dialyseverfahren auf die Verfügbarkeit von Thiamin besteht und deshalb die Indikation zur Supplementierung überhaupt gegeben ist. Gleichzeitig bestehen, besonders beim *β*-Benzoylthiamin-*O*-monophosphat (BTMP), das zu den bedeutendsten Vertretern synthetischer Thiaminderivate bei der Behandlung der diabetischen Polyneuropathie zählt, Wissenslücken zu dessen Pharmakokinetik unter dem Einfluss einer stark reduzierten glomerulären Filtrationsrate, und seinem Vermögen, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Letzter Aspekt betrifft die Frage der Verfügbarkeit im Zentralnervensystem, die bei der therapeutischen Anwendung des Thiamins von außerordentlichem Interesse ist, da Ausfallserscheinungen ganz wesentlich auch das Nervensystem betreffen. Bisher ist die Bioverfügbarkeit im Liquor cerebrospinalis jedoch nur für die synthetischen Derivate des Disulfid-Typs (Thiaminpropyldisulfid, Thiamintetrahydrofurfuryldisulfid) untersucht worden (Baker et al., 1974, Baker und Frank, 1976).

Bevor die Probleme und Zielstellung der Arbeit abgeleitet werden, dient der folgende Literaturüberblick dazu, unter therapeutischem Gesichtspunkt den Kenntnisstand zu den verschiedenen Thiaminstrukturen mit ihren physikochemischen Eigenschaften, Resorptionsmechanismen, die Auswirkungen der physikochemischen Eigenschaften auf die Resorption und Pharmakokinetik und die möglichen Folgen der chronischen Niereninsuffizienz hierfür zusammenzufassen.

2 Literaturübersicht

2.1 Thiamin

Thiamin (M_r 266) und die im Organismus nachweisbaren Phosphorsäureester Thiaminmono- (TMP, M_r 346), di- (TDP, M_r 426) und -triphosphat (TTP, M_r 506) gehören zur Gruppe der wasserlöslichen Vitamine des B-Komplexes und werden unter dem Begriff Vitamin B₁ oder der hierfür äquivalenten Bezeichnung Thiamin zusammengefasst. Es besitzt eine hohe Struktur- bzw. Konstitutionsspezifität, so dass bereits geringe Veränderungen am Molekül zu Wirkungsminderungen, Unwirksamkeit und in bestimmten Fällen zu Substanzen mit Antivitamincharakter führen können

(Bässler et al., 1997). Therapeutisch werden Thiaminderivate bei neurologischen Systemerkrankungen angewendet, wenn ein Thiaminmangel nachgewiesen werden kann (Anonym, 2000a).

2.1.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften

Handelsformen der Thiaminsalze. Thiamin besteht aus einem Pyrimidinring (2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidin), der über eine Methylengruppe mit einem Thiazolring (4-Methyl-5-hydroxyethylthiazol) verbunden ist. Seine Struktur wurde aufgeklärt als 3-(2'-Methyl-4'-amino-5'-pyrimidylmethyl)-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol (Williams und Cline, 1936). In wässriger Lösung besteht bei physiologischem pH ein Gleichgewicht zwischen der geschlossenen Thiazol- (organisches Kation) und der offenen Thiolform, wobei das Gleichgewicht in alkalischer Lösung auf der Seite der offenen Form liegt (Abb. 2-1) (Dannhardt und Eger, 1985).

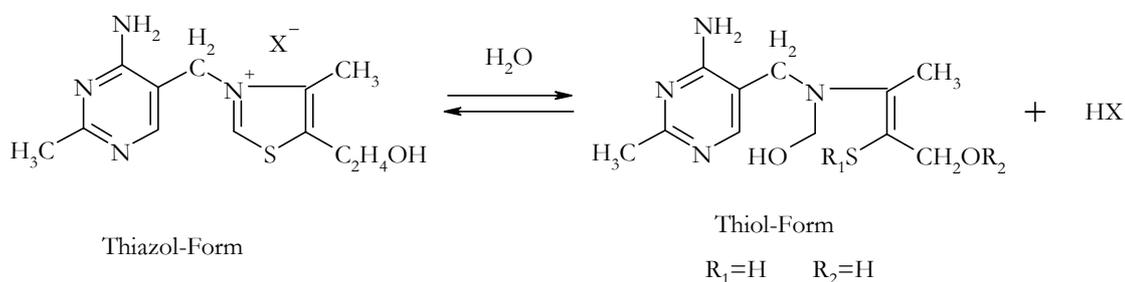


Abb. 2-1 Thiazol- und Thiolstruktur des Thiamins

Thiamin wird in der therapeutischen Praxis in Form verschiedener hydrophiler Salze bzw. lipophiler Derivate eingesetzt (Anonym, 2000a). Zu den hauptsächlich angewandten wasserlöslichen Verbindungen gehören Thiaminchloridhydrochlorid (T-HCl) und Thiaminmononitrat (T-NO₃) (vgl. Abb. 2-2 und Tab. 2-1).

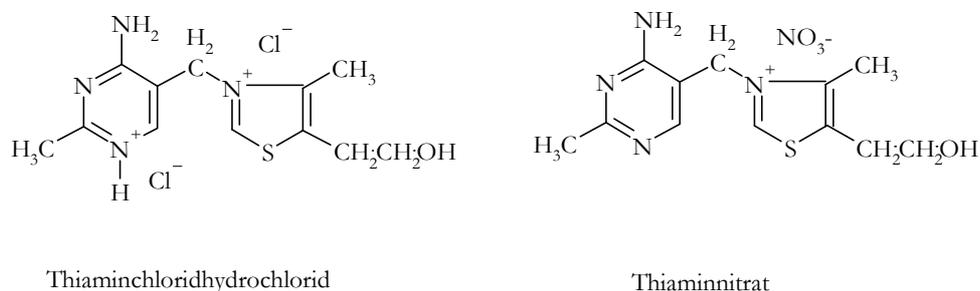
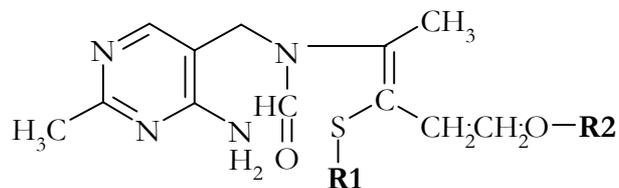


Abb. 2-2 Arzneilich verwendete Thiaminsalze

Die Handelsform des Thiamins als Salz basiert auf zwei wesentlichen Eigenschaften: (1) Aufgrund des quaternären Stickstoffatoms ist Thiamin eine starke Base und liegt bei neutralem pH vollständig ionisiert vor. (2) Darüber hinaus kann auch die primäre Aminogruppe am Pyrimidinring ionisiert

vorliegen, wobei jedoch aufgrund mechanistischer Überlegungen eines der beiden endozyklischen Stickstoffatome bevorzugt ist (Dannhardt und Eger, 1985). Für wässrige Lösungen gilt, dass sich das Monosalz durch größere Stabilität gegenüber dem besser wasserlöslichen Disalz auszeichnet (Dannhardt und Eger, 1985). T-NO₃ eignet sich v.a. für trockene pharmazeutische Präparationen sowie zur Anreicherung von Nahrungsmitteln, während für Injektionszwecke nur das T-HCl benutzt wird (Friedrich, 1987).

Lipophile Thiaminderivate. Die lipophilen Verbindungen lassen sich grundsätzlich einteilen in Thiaminderivate vom Disulfid-Typ und Thiaminderivate vom *S*-Acyl-Typ (s. ausführliche Übersicht bei Ziems, 1997). *S*-Acyl-Derivate sind den Derivaten des Disulfid-Typs überlegen aufgrund der Bindungsstabilität der *S*-Acylbindung (Ziems, 1997). Ihnen gemeinsam ist jedoch der geöffnete Thiazolring (Abb. 2-3). Dies ist in analytischem Zusammenhang insofern von Bedeutung, als die lipophilen Derivate sich nicht ohne Vorbehandlung mit der Thiochrommethode nachweisen lassen (vgl. Abschnitt 2.4.1). Ausgehend von der offenen Thiolform in alkalischer Lösung werden bei diesen Derivaten die Bindungspartner der Thiolgruppe (R1) und der Hydroxyethylgruppe (R2) modifiziert (Abb. 2-3 und 2-4).



R1 = z.B. Alkyl- (Methyl-, Propyl- oder Allyl) sulfid

R2 = z.B. H (u.a. bei Thiaminallyldisulfid = "Allithiamin")

Abb. 2-3 Systematik lipophiler Thiaminderivate (nach Bitsch und Bitsch, 1989)

Die lipophilen Eigenschaften werden von den mehr oder weniger wasserlöslichen Substituenten bestimmt (Abb. 2-4). Beispielsweise besitzt das *S*-Benzoylthiamin-*O*-monophosphat (Benfotiamin oder BTMP) aufgrund des lipophilen Benzolringes an R1 und der stark hydrophilen Phosphatgruppe an R2 einen amphoteren Charakter (Tab. 2-1). Es wurde 1960 von Matsukawa und Mitarb. in Japan synthetisiert (Fujiwara, 1965). Als Phosphatester liegt BTMP unter physiologischen Bedingungen als Anion vor und wird schneller dephosphoryliert als Thiaminmonophosphat (TMP) (Shindo et al. 1969, zit. nach Ziems, 1997, Yamazaki, 1968). BTMP ist, ebenso wie Thiamintetrahydrofurfuryldisulfid (CAS-Nr. 804-30-8) und Thiamindisulfid (CAS-Nr. 67-16-3) als Vertreter des Disulfid-Typs, selbst nicht vitaminwirksam.

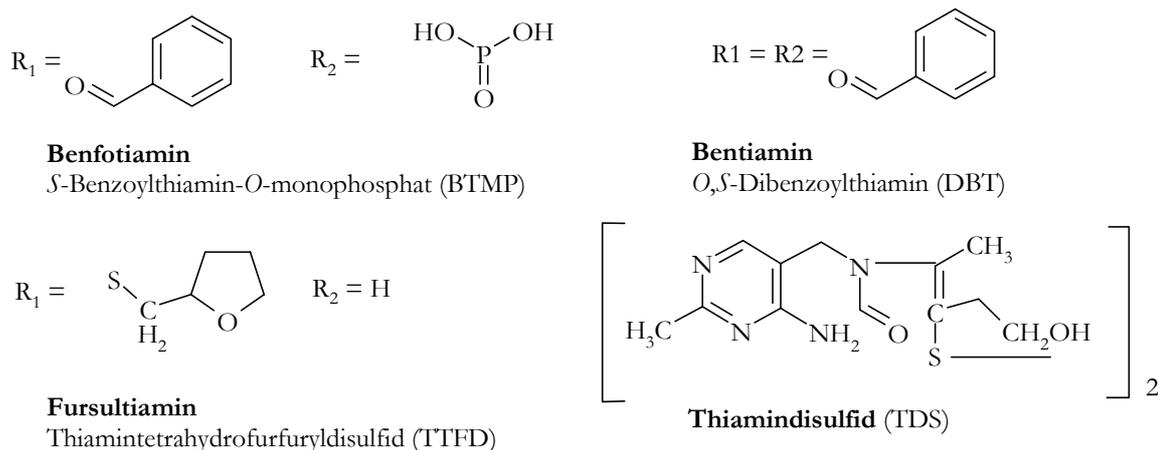


Abb. 2-4 Arzneilich verwendete synthetische Thiaminderivate.

Die *S*-Acyl- und Disulfid-Derivate sind erst dann vitaminwirksam, wenn ihr Thiazolring durch reduzierende Substanzen wie Cystein oder Glutathion geschlossen wird und eine Phosphorylierung zum biologisch aktiven Thiamin (TDP) im Organismus erfolgt. Somit können die lipophilen Thiaminderivate auch als „Pro Drugs“ bezeichnet werden (Oka, 1984, zit. nach Wolf, 1995).

Tabelle 2-1 Physikalisch-chemische Eigenschaften therapeutisch eingesetzter Thiaminderivate (Wolf, 1995)

	Thiaminhydrochlorid	Thiaminmononitrat	BTMP
CAS-Nr.	67-03-8	532-43-4	22457-89-2
M_r	337,3	327,4	466,5
Schmelzpunkt (°C)	248	200	195
Beschreibung	farblose Kristalle (Hemihydrat), stark hygroskopisch	farblose Kristalle, gering hygroskopisch	farblose Kristalle, nicht hygroskopisch
	UV _{max} bei 245 nm, stabil bei pH < 5, Zersetzung bei pH > 7, thermolabil, charakteristischer (hefeartiger) Geruch, leicht bitterer Geschmack	siehe links	stabil bei pH < 5, geruchs- und geschmacklos, unempfindlich gegenüber Thiaminase I und II
Löslichkeit	leicht in Wasser (1 g/ml), auch in Glycerin und Methanol, nicht in Aceton, Ether, Benzol und Chloroform	wenig in Wasser bei 25°C (2,7 g/100 ml)	leicht in Eisessig, schwer in Ethanol, Chloroform, Methanol, in Wasser 0,004 g/ml (pH 4,0) und 1 g/ml (pH 8,0)

2.1.2 *Physiologie*

Stoffwechsel. Im Unterschied zu Pflanzen und Mikroorganismen können tierische Organismen nur Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsreaktionen am fertigen Molekül durchführen. Diese Reaktionen zählen – neben der Neuaufnahme – zu den wichtigsten intrazellulären Regulativa für die Thiaminwirkungen im neuronalen Gewebe, da unterschiedliche Phosphorsäureester in unterschiedlicher Weise in die Nervenzellfunktionen eingebunden sind (Bernstein, 1997). Störungen der Thiaminbereitstellung und/oder des intracerebralen Thiaminmetabolismus sind somit meist Verschiebungen im Phosphorylierungsmuster des Thiamins (Heroux et al., 1996). Diese Befunde können regelmäßig bei Thiaminmangel, Alkoholabusus oder Hyperglykämie beobachtet werden und führen zu profunden Hirnfunktionsstörungen wie erhöhte Krampfbereitschaft, NMDA-Rezeptorvermittelte Neurotoxizität mit Zelluntergängen, Störungen der Acetylcholin-Synthese und erhöhte Ablagerung von β -Amyloid (Frydl und Zavodska, 1991, Meador et al., 1993, Mastrogiacomo et al., 1996). Unter den verschiedenen Regionen des Zentralnervensystems weist das Cerebellum nicht nur die höchste Rate der Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsvorgänge auf, sondern es hat auch die höchsten Konzentrationen an Gesamthiamin, TDP, und TDP-abhängigen Enzymen (Nauti et al., 1997). Freies Thiamin wird durch direkten Transfer eines Diphosphatrestes aus ATP mit Hilfe der Thiamin-Pyrophosphokinase (EC 2.7.6.2) zu TDP umgewandelt (Friedrich, 1987). Die Phosphorylierung von TMP zu TDP ist im tierischen Organismus nicht möglich (Cooper und Pincus, 1979). TDP wird in allen tierischen Zellen durch die Aktivität der Thiamin-Diphosphatase (TDPase) zu TMP hydrolysiert oder durch die Thiamindiphosphat-Kinase (synonym Phosphoryltransferase, TDP-Kinase, EC 2.7.4.15) vorzugsweise im Gehirn zu TTP phosphoryliert. TTP kann wiederum durch die Aktivität der Thiamin-Triphosphatase (TTPase, EC 3.6.1.28) zu TDP hydrolysiert werden (Mastrogiacomo et al., 1996, Haas, 1988).

Coenzymatische Funktionen. Die vermutlich einzige Coenzymform des Thiamins, TDP, ist an der dehydrierenden (oxidativen) Decarboxylierung von 2-Oxosäuren beteiligt und hat deswegen eine zentrale Rolle im Zitratzyklus und damit im Energiestoffwechsel (Heseker, 1988). In seiner Coenzymwirkung lässt sich – mit Ausnahme der Transketolase – ein prinzipiell gleiches Reaktionsmuster erkennen: TDP fungiert innerhalb von 2-Oxosäuren-Decarboxylase-Untereinheiten dreier genereller Typen von mitochondrialen 2-Oxosäuren-Dehydrogenasen (Pyruvat-Dehydrogenase, EC 1.2.4.1; 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase oder Ketoglutarat-Dehydrogenase, EC 1.2.4.2, und Verzweigtketten-2-Oxosäuren-Dehydrogenase, EC 1.2.4.4) als Carrier eines „aktiven Aldehyds“ (Acetaldehyd), um reaktive Intermediate, Hydroxyethyl-TDP und α -Hydroxy- β -carboxypropyl-TDP, zu bilden. Diese werden letztlich zu Coenzym A (CoA) übertragen, um Acetyl-CoA oder Succinyl-CoA zu bilden (Kawasaki, 1992a). Acetyl-CoA dient neben seiner zentralen Bedeutung im Energiestoffwechsel

auch der Synthese von Fetten und Sterinen. So wird beobachtet, dass Gliazellen im Nervengewebe bei einem Thiaminmangel weniger Fettsäuren, Cholesterin und Acetylcholin bilden (Heseker, 1988). Die bei der Transaminierung entstehenden Oxosäuren der Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin werden durch den Verzweigtketten-2-Oxosäuren-Dehydrogenase-Komplex zu Acyl-CoA-Derivaten katalysiert, so dass TDP auch wichtige Funktionen im Aminosäurenstoffwechsel hat (Bässler et al., 1997).

TDP ist im Nervengewebe als Coenzym von Pyruvat-Dehydrogenase und Ketoglutarat-Dehydrogenase von Bedeutung. Die Ketoglutarat-Dehydrogenase ist als schrittlimitierendes Enzym der cerebralen Glukose-Utilisation identifiziert worden (Bernstein, 1997). Eine niedrige Aktivität dieses Enzyms infolge niedriger intrazellulärer TDP-Konzentrationen ist mit Laktazidose, cerebralen Energiestörungen und neuronalem Zellverlust verbunden (Heroux et al., 1996). Die Verlangsamung des Zitronensäurezyklus im Zustand des Thiaminmangels kann somit als Hauptgrund für die biochemischen Läsionen im Nervengewebe verantwortlich gemacht werden (Bettendorff et al., 1995).

Im Pentosephosphatzyklus wird durch die zytosolische, TDP-abhängige Transketolase (EC 2.2.1.1) die Bindung zwischen den C-Atomen 2 und 3 von D-Xylulose-5-phosphat aufgespalten und der α -Ketolrest als „aktiver Glykolaldehyd“ an TDP gebunden und dann an Aldosen, wie D-Ribose-5-Phosphat oder D-Erythrose-4-phosphat, übertragen. Der Pentosephosphatzyklus als Nebenweg des Glukoseabbaus hat große Bedeutung durch die Lieferung von Pentosen, welche für die Nukleotidsynthese benötigt werden und bei der Bereitstellung von reduziertem NADP, das für verschiedene synthetische Stoffwechselwege benötigt wird (Davis und Icke, 1983). Bei unzureichender Thiaminversorgung ist der Glukoseabbau über den Hexosemonophosphatweg, d.h. unter katalytischer Beteiligung der Transketolase, verlangsamt. Da diese Störung relativ früh eintritt, d.h. noch vor dem Eintreten klinischer Mangelsymptome, ist die Bestimmung der ETKA als ein hervorragender Parameter des Thiaminversorgungszustandes geeignet (Heseker, 1988, vgl. Abschnitt 2.4.2).

Resorption. Das in tierischen Lebensmitteln überwiegend in Form seiner Phosphatester vorkommende Thiamin wird vor der Resorption durch im Darm vorhandene Phosphatasen dephosphoryliert (Heseker, 1988). Zahlreiche Befunde zeigen, dass beim anschließenden Transport des Thiamins durch die intestinale Bürstensaummembran sowohl eine sättigbare als auch eine nichtsättigbare Komponente im Sinne eines dualen Transportmechanismus beteiligt ist (Weber et al., 1990). Im intestinalen Lumen wirkt im Bereich physiologischer Thiaminkonzentrationen ($<2 \mu\text{M}$) ein sättigbarer, teilweise ATP- und natriumabhängiger Prozess, während im Bereich pharmakologischer Konzentrationen ($>2 \mu\text{M}$) das Thiamin vorwiegend passiv per Diffusion, d.h. natriumunabhängig, absorbiert wird (Hoyumpa et al., 1982). Bei oraler Verabreichung von wasserlöslichem Thiamin im

Grammbereich, wodurch überwiegend die passive Diffusion wirksam wird, werden Resorptionskoeffizienten von nur noch 5-10% gemessen (Hötzel, 1988). Die Beziehung zwischen dem Thiamintransport durch die Bürstensaummembran und der Phosphorylierung zu TDP ist noch nicht endgültig geklärt. Obwohl verschiedene Studien die These untermauern, dass es eine enge Beziehung zwischen Transport und Phosphorylierung gibt, stellen andere Studien die Rolle der Phosphorylierung beim Transport in Frage (Übersicht bei Kawasaki, 1992a). Durch die Messung der Aufnahme von $[^{35}\text{S}]$ -Thiamin in mit Ca^{2+} präzipitierten Vesikeln aus der Bürstensaummembran von Ratten konnten Casirola et al. (1988) nachweisen, dass ein spezifischer Carrier existiert, der den erleichterten Transport von Thiamin in den Bürstensaumvesikeln katalysiert. Nach der Passage durch die Bürstensaummembran, vermittelt durch einfache oder erleichterte Diffusion, akkumuliert Thiamin im Zytoplasma durch die Aktivität der Thiaminpyrophosphokinase als TDP und kann nur nach Dephosphorylierung über TMP zum freien Thiamin die Zelle wieder verlassen (Kawasaki, 1992a, Weber, 1991).

Transport und Aufnahme ins Gewebe. Das Gesamtthiamin ist im Blut inhomogen verteilt, und zwar zu 15% in den Leukozyten, 75% in den Erythrozyten und 10% im Plasma, wo es insbesondere an Albumin gebunden ist (Houser et al., 1965). In den Erythrozyten liegt das Thiamin zu ca. 90% als TDP vor. Die Aufnahme von freiem Thiamin in die Erythrozyten erfolgt wahrscheinlich über erleichterte Diffusion (Tampaichitr, 1994). Das Plasma enthält überwiegend Thiamin und TMP, das jeweils sowohl in freier Form als auch als Phosphat albumingebunden transportiert wird (Tallaksen et al., 1992b, Thom et al., 1985, Lee et al., 1991). Der Anteil des phosphorylierten Thiamins am Gesamtthiamin im Plasma liegt zwischen 10 und 30% (Royer-Morrot et al., 1992, Thom et al., 1986). Thiamin ist hierbei über die Phosphatgruppe an Albumin gebunden. Mit Zunahme der Serumthiaminkonzentrationen sinkt der Anteil von gebundenem Thiamin (10-20%). Das nichtgebundene Thiamin wird schnell ausgeschieden, d.h. es besteht ein Zusammenhang zwischen der Konzentration an ungebundenem Thiamin im Plasma und der Höhe der Thiaminausscheidung im Urin (Heseker, 1988, Thom et al., 1986). Zusätzlich existiert im Plasma eine für TDP spezifische Phosphataseaktivität (Thom et al., 1985). Die begrenzte Bindungskapazität für phosphoryliertes Thiamin und die Dephosphorylierung sind zusammen mit der aktiven renalen Elimination (vgl. Abschnitt 2.1.4) als Schutzmechanismus vor übermäßiger Thiaminakkumulation im Plasma zu verstehen (Thom et al., 1985). Insgesamt befinden sich im Blut nur 0,8-1% des Gesamtthiaminbestandes (Tallaksen et al., 1997). Die Gesamtthiaminkonzentration im Vollblut beträgt bei Gesunden 38-120 ng/ml (Floridi et al., 1984, Herve et al., 1994, Brunnekreeft et al., 1989, Friedrich, 1987).

Die Thiaminaufnahme erfolgt in Niere, Leber, Gehirn und Cerebrospinalflüssigkeit (Liquor) über einen dualen Mechanismus, der dem des Intestinums vergleichbar ist (Greenwood et al., 1982).

Während die Leber nur freies Thiamin aufnimmt, können Herz, Niere, und Gehirn auch TMP aufnehmen (Ziems, 1997). Hier finden sich auch, neben der Muskulatur, die höchsten Thiaminkonzentrationen (Bässler et al., 1997). Vorwiegend in der Leber und teilweise in der Muskelzelle findet erneut eine fast vollständige Phosphorylierung des Thiamins zu TDP, mitunter bis zum TTP, statt (Kawasaki, 1992b). Bezüglich des mitochondrialen Coenzymtransportes und -umsatzes liegen nur geringe Kenntnisse vor. Barile et al. (1998) zeigten, dass eine in der Mitochondrienmatrix der Rattenleber lokalisierte TDPase die Dephosphorylierung von TDP zu TMP katalysiert. Überdies wiesen sie nach, dass TMP die Mitochondrienmembran in Form eines Carrier-vermittelten Prozesses passiert. Im Zytosol steht es dann nach Dephosphorylierung zu Thiamin wieder zur TDP-Synthese zur Verfügung. Da die Lebermitochondrien auch für TDP permeabel sind, wird angenommen, dass TDP, möglicherweise im Austausch mit TMP, in die Mitochondrien aufgenommen wird. Somit enthalten die Mitochondrien als Ort des Zitratzyklus notwendigerweise ihre eigenen Enzyme, die den Transport und den Umsatz der entsprechenden Coenzyme gewährleisten (Barile et al., 1998).

Der Organismus hat für Thiamin nur eine geringe Speicherkapazität und eine hohe Umsatzrate. Die biologische Halbwertszeit liegt im Bereich von 9 bis 18 Tagen (Ariaey-Nejad et al., 1970). Im Liquor, Blutplasma und in der Muttermilch befinden sich hauptsächlich freies Thiamin und TMP, während Erythrozyten und Gewebe vorwiegend TDP enthalten (Bässler et al., 1997, Rindi et al., 1981). Der Wertebereich der TDP-Konzentration in den Erythrozyten gesunder Menschen liegt zwischen 92 und 224 ng/ml (Kawasaki, 1992a, Tallaksen et al., 1991). Im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen können bei bestimmten neurologischen Krankheitsbildern (z.B. Ataxie) signifikant niedrigere Konzentrationen an TMP und Thiamin im Plasma und Liquor als auch niedrigere TDP-Konzentrationen in den Erythrozyten beobachtet werden (Poloni et al., 1992). Meist findet sich hier im Liquor auch eine Umkehrung des normalen Thiamin/TMP-Verhältnisses (< 1) als Hinweis auf eine Störung der TDPase, so dass dem Thiamin/TMP-Verhältnis diagnostische Bedeutung zukommt (Poloni et al., 1992, Rindi et al., 1981).

Es existieren verschiedene Mechanismen an der Blut-Hirn-Schranke, die die Konzentration von Thiamin im Liquor und im Extrazellulärraum des Gehirnes regulieren; sie dienen jeweils dem Schutz vor nahrungsbedingten Fluktuationen (Heseker, 1988). Bei Thiaminmangel kann ein partieller Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke beobachtet werden (Bernstein, 1997). Dieser Abbau vollzieht sich in zwei Phasen: In der präsymptomatischen Frühphase treten lokalisierte Gefäßaustritte endogenen Albumins auf, und in der Spätphase treten parallel zu den neurologischen Symptomen massive Albuminverluste und histologische Läsionen auf (Romero et al., 1997). Ein guter Maßstab für die Funktionalität der Blut-Hirn-Schranke ist ein Serum/Liquor-Albuminverhältnis > 130 (Poloni et al., 1992). Thiamin wird durch Neuroblastom- und Gliazellen über einen hochaffinen Transporter

($K_m = 35 \text{ nM}$) aufgenommen und anschließend schnell phosphoryliert (Bettendorff, 1996). Die hohe Umsatzrate der TTP-Phosphorylgruppen hängt mit der spezifischen Funktion des TTP im Nervengewebe zusammen (Berman und Fishman, 1975).

Ausscheidung. Die Thiaminausscheidung korreliert mit der Höhe der Thiaminaufnahme (Bayliss et al., 1984). Unter physiologischen Bedingungen werden ca. 50% als unverändertes bzw. mit Sulfat verestertes Thiamin ausgeschieden. Die tägliche Thiaminausscheidung im Urin beträgt bei gesunden Personen durchschnittlich $1,2 \mu\text{mol}$ (Heseker et al., 1992). Referenzbereiche, die mit einem marginalen und defizitären Versorgungszustand assoziiert sind, werden mit $133\text{-}333 \text{ nmol}$ ($40\text{-}100 \mu\text{g}$) bzw. $< 40 \mu\text{g}$ angegeben (Anonym, 2000b). Neben freiem Thiamin können im Urin eine Vielzahl von Metaboliten, wie z.B. Methylthiazolessigsäure, Pyramin und Thiaminsäure, aber auch TMP nachgewiesen werden (Friedrich, 1987, Hötzel, 1988). Bei höheren Dosen gewinnt die biliäre Ausscheidung an Bedeutung (Hötzel, 1988).

2.1.3 Toxizität

Thiamin gilt bei Menschen bis zu einer Dosis, die den Tagesbedarf um mehr als das 1000fache übersteigt, als untoxisch (Davis and Icke, 1983). Die therapeutische Breite ist somit sehr groß. Während beim Menschen nach Injektion mit T-HCl vereinzelt Reaktionen ähnlich dem anaphylaktischen Schock auftreten können, führen beim Tier hohe, intravenös applizierte Thiamin-Dosen zum Tod durch Lähmung des Atmungszentrums (Davis und Icke, 1983). Die teilweise höhere akute Toxizität oral verabreichter lipophiler Thiaminderivate im Vergleich zu wasserlöslichem T-HCl ist auf die gute intestinale Resorption der Thiaminkomponente zurückzuführen (Gauthier et al., 1963, zit. nach Netzel, 1997) (Tab. 2-2).

Tabelle 2-2 LD₅₀-Werte (Maus) von Thiaminchloridhydrochlorid (T-HCl) und verschiedenen lipophilen Thiaminderivaten (nach Ziems 1997, Bitsch und Bitsch, 1989)

Substanz	Intravenös (g/kg KG)	Oral (g/kg KG)
T-HCl	0,07...0,13	3,0...15,0
TDS	1,03	6,9
Thiaminallydisulfid (TAD)	0,34	0,85
Thiaminpropyldisulfid (TPD)	0,35	1,58
TTFD	0,43	2,2
BTMP	2,2	15,0
O,S-Diacetylthiamin (DAT)	0,37	10,6

Die lipophilen Eigenschaften bewirken eine höhere Membrangängigkeit, dosislineare, passive Resorption und dadurch höhere Wirkspiegel im Blut (vgl. Abschnitt 2.2) (Baker et al., 1974). Bei oraler Gabe von T-HCl kommt es erst in Dosen von 3 - 15 g/kg Körpergewicht zu toxischen Erscheinun-

gen, während z.B. TPD bereits in Dosierungen von 1,58 – 2,75 g/kg Körpergewicht toxisch wirkt (Fujiwara et al., 1954). Bei der Debenzoylierung von BTMP zu TMP bzw. SBT zu Thiamin entsteht im Organismus Benzoesäure, die zu Hippursäure konjugiert wird. Bei empfindlichen Personen kann Benzoesäure aufgrund einer Pseudoallergie mit Salicylaten pseudoallergische Reaktionen hervorrufen (Ziems, 1997). Obwohl Benzoesäure bei der Debenzoylierung des BTMP theoretisch entsteht, konnte sie bei Gesunden nach Applikation von BTMP nicht nachgewiesen werden (Ziems, 1997). Im Ergebnis neuerer Untersuchungen zur *anti-/prooxidativen Wirkung* einiger B-Vitamine stellte Hu (1995) fest, dass die durch FeCl₃ und Ascorbinsäure induzierte *mikrosomale Lipidperoxidation* dosisabhängig (bis zu 5 mM) durch Pyridoxal und Pantothenensäure *in vitro* gehemmt, durch T-HCl, Pyridoxin und Carnitin jedoch stimuliert wurde. Der Effekt ließ sich in seinem Ausmaß durch Vitamin E teilweise verhindern. Der Wirkmechanismus soll in der Freisetzung von Eisen-Ionen aus dem mikrosomalen Ferritin bestehen (Hu, 1995).

2.1.4 Pharmakokinetik

Die Pharmakokinetik des Thiamins ist in der Literatur spärlich beschrieben, hauptsächlich aufgrund der erst seit wenigen Jahren für Plasmamessungen zur Verfügung stehenden empfindlichen HPLC-Methoden. Im Bereich therapeutischer Dosierungen werden sowohl bei der renalen als auch bei der nichtrenalen Elimination nichtlineare Eigenschaften festgestellt. Weber und Kewitz (1985) und Weber (1991) untersuchten die Pharmakokinetik von Thiamin an Gesunden und niereninsuffizienten Patienten nach oraler und intravenöser (Einzelgabe oder 50minütige Infusion) Applikation von T-HCl. Sie fanden nach oraler Verabreichung von 50, 100 und 200 mg T-HCl einen nichtlinearen Konzentrationsverlauf im Plasma zwischen der niedrigen und mittleren Dosis, nicht jedoch zwischen 100 und 200 mg. Durch die tubuläre Reabsorption und den intrazellulären Einschluss von TDP verhindert der Organismus einen Thiaminverlust bei Aufnahme von physiologischen Dosen (1-2 mg/Tag) (Weber, 1991). Da die Phosphorylierung zum TDP reversibel ist und die Dephosphorylierung im Vergleich zu den übrigen kinetischen Prozessen des freien Thiamins langsam abläuft, kann die Metabolitenbildung als Verteilungsvorgang in ein tieferes Kompartiment aufgefasst werden (Weber, 1991). Bei Plasmakonzentrationen von 6 bis 15 nmol/l (ca. 1,6 bis 4 ng/ml) erfolgt die Elimination vorwiegend nichtrenal. Niedrige therapeutische Dosierungen von ca. 5 mg T-HCl werden nur zu 25% renal ausgeschieden, während hohe parenterale Dosen von mehr als 100 mg nahezu vollständig renal eliminiert werden. Die flow-abhängige renale Elimination wird daran deutlich, dass bei hohen Plasmakonzentrationen die GFR nahezu dem renalen Plasmafluss entspricht (Weber und Kewitz, 1985). Dieser renale Überlauftreffekt nach hohen Dosen ist Ausdruck der ausgeprägten Selbstdepression nichtrenaler Clearance-Prozesse sowie der starken Sättigung der tubulären Reabsorption (Weber, 1991). Die Elimination nach parenteraler Applikation ist dreiphasig (Tab. 2-3).

Tabelle 2-3 Triphasische Elimination des Gesamthiamins im Plasma bei gesunden Versuchspersonen nach Applikation von T-HCl, Median (Wertebereich)

Studie	Dosis (mg)	k_{α} (h^{-1})	k_{β} (h^{-1})	k_{γ} (h^{-1})
Weber und Kewitz, 1985	50-200	4,6 (1,4-6,9)	0,7 (0,5-1,2)	0,014 (0,036-0,003) [†]
Royer-Morrot et al., 1992	500	n.b.	n.b.	0,016 (0,02-0,013) [‡]
Hagen, 1991	100	4,6 (3,5-5,0)	0,6 (0,5-0,8)	0,014 (0,006-0,03)

[†] Schätzwert, [‡] mittlere Eliminationskonstante

Das zugrundeliegende Drei-Kompartiment-Modell beschreibt übereinstimmend eine schnelle Elimination aus dem zentralen Kompartiment (schneller Abfall der Thiaminkonzentrationen in der α -Phase) und Verteilungsvorgänge zwischen dem zentralen und peripheren bzw. „tieferen“ Kompartimenten (β -, γ -Phase). Die Anpassung der Konzentrations-Zeit-Verläufe an dieses Modell gestattet bei intravenöser Applikation die Annahme einer Gewebeanreicherung, woraus Thiamin mit k_{γ} langsam verteilt und eliminiert wird. Die Bedeutung der Niere für die Thiaminelimination wird daran deutlich, dass Individuen mit normaler Nierenfunktion 80-96% der i.v.-Dosis unverändert ausscheiden, während die niereninsuffizienten Patienten 51-66% ausschieden. Außerdem korrelierten die Plasmaclearance und die renale Clearance eng mit der Kreatinin-Clearance (Weber und Kewitz, 1985).

Tallaksen et al. (1993b) untersuchten die Pharmakokinetik von Thiamin und dessen Phosphateestern in Blut, Plasma und Urin nach oraler und intravenöser Applikation von jeweils 50 mg T-HCl. Die pharmakokinetischen Parameter wurden nach Anpassung der Daten an ein Zwei-Kompartiment-Modell nach intravenöser Applikation bzw. an ein Ein-Kompartiment-Modell mit Resorption erster Ordnung nach oraler Applikation abgeleitet. Die Terme für das periphere Kompartiment in dem Zwei-Kompartiment-Modell wurden an die erythrozytären TDP-Konzentrationen angepasst. Es konnte ein unverzüglicher und starker Anstieg des freien Thiamins im Plasma und Vollblut nach der Injektion, aber nur ein moderater und langsamer Anstieg des TMP und TDP beobachtet werden. Thiamin wird aus dem Plasma schnell mit dem Urin eliminiert und in andere Kompartimente verteilt. Es gab nur eine verzögerte und begrenzte intrazelluläre Phosphorylierung zu TDP. Nach Applikation der oralen Dosis erhöhten sich die Konzentrationen an freiem Thiamin, TMP und TDP nur moderat. Weniger als 5% wurden nach Gabe der oralen Dosis im Urin wiedergefunden, während nach intravenöser Applikation ca. die Hälfte der Dosis im Urin wiedergefunden wurde. In Übereinstimmung mit anderen Studien deutet dies darauf hin, dass der größte Teil einer applizierten Thiamindosis nicht absorbiert wird (Tallaksen et al., 1993b). Die terminalen Eliminations-Halbwertszeiten betragen im Durchschnitt 1,6 h (0,2-4,6 h) und 2,6 h (3,4-1,5 h), entsprechend einer Eliminationskonstante von $\lambda_z = 0,43 h^{-1}$ (3,5-0,15 h^{-1}) und $0,26 h^{-1}$ (0,2-0,5 h^{-1}) nach intravenöser bzw. oraler Applikation. Die „lag-time“, welche gleichbedeutend der Absorption ist, betrug im Mit-

tel $0,42 \pm 0,3$ h (0,96-0,13 h). Die geschätzte relative Bioverfügbarkeit betrug, basierend auf den korrigierten Daten der Urinausscheidung, $5,3 \pm 1,7\%$ (Tallaksen et al., 1993b).

Kitamori und Itokawa (1993) führten eine pharmakokinetische Analyse nach oraler Administration von 10 und 100 mg TTFD mit sechs gesunden Probanden durch und bestimmten den Konzentrations-Zeit-Verlauf des Gesamtthiamins im Vollblut über 48 Stunden. Da der Anstieg der Thiaminkonzentration nach Administration ausreichend groß war, konnten sie wie Tallaksen et al. (1993) die Werte an ein Zwei-Kompartiment-Modell mit Resorption erster Ordnung anpassen (Gl. 2.1).

$$C_p = Ae^{-\alpha(t-t_0)} + Be^{-\beta(t-t_0)} - (A+B)e^{-K_a(t-t_0)} \quad (2.1)$$

Hierin bezeichnen C_p die Vitaminkonzentration im zentralen Kompartiment zum Zeitpunkt t , A und B die Ordinatenabschnitte (fiktive Anfangskonzentrationen) und t_0 die lag-time. Die berechneten Parameter zeigt Tab. 2-4.

Tabelle 2-4 Pharmakokinetische Parameter von Gesamtthiamin im Vollblut gesunder Probanden nach verschiedenen Dosen von TTFD (nach Kitamori und Itokawa, 1993)

Parameter	TTFD p.o. (10 mg)	TTFD p.o. (100 mg)
k_{12} (h^{-1})	0,856	0,406
k_{21} (h^{-1})	1,2	0,375
k_a (h^{-1})	2,1	1,17
k_{el} (h^{-1})	0,03	0,137
V_c (l)	185	163
Lag time (h)	0,500	0,292

k_{12} , k_{21} = Verteilungskonstanten, k_a = Absorptionskonstante erster Ordnung, k_{el} = Eliminationskonstante erster Ordnung, V_c = Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments

Das relativ große Verteilungsvolumen ergab sich wahrscheinlich aus der starken TDP-Anreicherung in den Erythrozyten, jedoch konnten die Autoren aus ihrer Studie kein physiologisches Korrelat dieser Größe ableiten. Nach Verabreichung der kleineren Dosis stiegen die maximalen Blutkonzentrationen um das 0,8fache, nach Verabreichung der höheren Dosis um das 10fache an. Obwohl sich der Anstieg nach Gabe der 10-mg-Dosis statistisch nicht von der natürlichen Fluktuation des Basiswertes unterschied, ergab die Simulation mit Hilfe der Parameter, die nach Gabe der 100-mg-Dosis abgeleitet wurden, eine gute Anpassung der Daten. Der Befund, dass die Parameter der 10-mg-Dosis denen der 100-mg-Dosis i.w. glichen, deutet darauf hin, dass die pharmakokinetischen Parameter nicht dosisabhängig sind (Kitamori und Itokawa, 1993).

Royer-Morrot et al. (1992) bestimmten die Pharmakokinetik des Thiamins nach multipler oraler (250 mg alle 12 h) bzw. intramuskulärer Verabreichung (500 mg pro Tag) über eine Dauer von 11 Tagen. Die mittlere basale Konzentration im Plasma betrug $3,2 \pm 1,7$ ng/ml zu Beginn der Studie.

Die mittlere Eliminationshalbwertszeit nach multipler intramuskulärer Applikation betrug 43,2 h, entsprechend $\lambda_z = 0,016 \text{ h}^{-1}$. Nach oraler Applikation wurde ein schrittweiser Anstieg der Thiaminkonzentration im Plasma bis zum Erreichen eines Plateaus (23,7 ng/ml) beobachtet. Nach wiederholter intramuskulärer Injektion wurde nach 6 Tagen ein Maximum von 31,4 ng/ml erreicht, danach fiel der Wert auf 26,1 ng/ml ab. Die Steady-State-Konzentration nach multipler oraler Applikation betrug somit 78% des Wertes nach intramuskulärer Injektion. Das extrapolierte Verteilungsvolumen betrug 31700 l, bei Annahme einer kompletten Absorption nach intramuskulärer Injektion.

Hagen (1991) untersuchte die Pharmakokinetik von phosphoryliertem und freiem Thiamin im Plasma nach einer sechsständigen Infusion mit 100 mg T-HCl bei 8 gesunden Versuchspersonen. Die basalen Konzentrationen an freiem und phosphoryliertem Thiamin betragen im Mittel 5 nmol/l ($\cong 1,3 \text{ ng/ml}$, Wertebereich 0-8 nmol/l [0-2,13 ng/ml]) bzw. 15 nmol/l ($\cong 6,4 \text{ ng/ml}$, Wertebereich 9-21 nmol/l [3,8-8,9 ng/ml]). Während der Infusion konnte sowohl beim freien als auch beim phosphorylierten Thiamin ein Anstieg auf durchschnittlich 1089 nmol/l ($\cong 290 \text{ ng/ml}$) bzw. 84 nmol/l ($\cong 35,7 \text{ ng/ml}$) beobachtet werden. Dabei erreichte die Konzentration an freiem Thiamin bei einigen Probanden ein Steady State, während die Konzentration an phosphoryliertem Thiamin über das Infusionsende hinaus konstant blieb bzw. weiter anstieg. Die physiologischen Konzentrationen an freiem und phosphoryliertem Thiamin wurden nach 168 bzw. 72 h wieder erreicht. Das Primärverteilungsvolumen, das die rasche Verteilung des Thiamins im Blutvolumen beschreibt, betrug im Mittel 10,3 l (7-14 l). Da die Werte geringfügig über dem Blutvolumen liegen, wird eine Albuminbindung angenommen (Hagen, 1991). Das Endverteilungsvolumen, das die Verteilung des Thiamins im Gesamtkörperwasser widerspiegelt, wurde mit 67 l bestimmt und erreichte damit in etwa die Größe des Gesamtkörperwassers. Diese Verteilung geht langsamer vor sich und erfolgt nicht gleichmäßig; in Übereinstimmung mit Ergebnissen aus Organbestimmungen (Ishii et al., 1979) kann der Schluss gezogen werden, dass sich Thiamin vermutlich besonders in den gut durchbluteten Organen wie Leber, Niere, Herz und Gehirn anreichert (Hagen, 1991).

2.2 Besonderheiten des S-Benzoylthiamin-O-monophosphats

2.2.1 Vitaminwirksamkeit

Generell ist für die Beurteilung des Einsatzes von synthetischen, lipophilen Thiaminderivaten entscheidend, ob sie im Organismus eine dem Thiamin entsprechende Vitaminaktivität entfalten. *In vitro* konnte bei Inkubation eines frischen Rattenleber-Homogenates mit BTMP die sofortige Umwandlung in freies Thiamin beobachtet werden (Itokawa et al., 1992).

Eine wichtige Determinante der Vitaminwirksamkeit ist die Bioverfügbarkeit (s. Glossar). Daher wird der Messung und Auswertung von Konzentrations-Zeit-Kurven im Plasma, Blut und/oder

Urin nach Applikation der Prüfsubstanz an Testpersonen eine zentrale Bedeutung beigemessen. Bleiben die Blutspiegel verglichen mit wasserlöslichen Thiaminsalzen auf höherem Niveau, bedeutet das, dass die lipophilen Derivate länger im Körper retiniert werden. Die daraus abgeleitete AUC dient als direktes Maß für die biologische Verfügbarkeit einer Substanz und steht in direkter Korrelation zur resorbierten Dosis (Ziems, 1997). Bei allen lipophilen Thiaminderivaten wurden biokinetische Untersuchungen fast ausschließlich in Bezug auf die Höhe des resultierenden Thiaminspiegels und auf die Thiaminausscheidung mit dem Urin durchgeführt (vgl. Abschnitt 2.2.3).

2.2.2 *Physiologie*

BTMP gelangt, da es in saurem Milieu beständig ist, nach der Magenpassage in das obere Duodenum. Nach den gegenwärtigen Vorstellungen bleiben die amphoteren Eigenschaften des BTMP bis zum Kontakt mit den membranständigen Phosphatasen der Darmmukosa erhalten (vgl. Übersicht in Anonym, 1996). Hier wird es dephosphoryliert, wobei das entstandene *S*-Benzoylthiamin (SBT), das überwiegend lipophile Eigenschaften besitzt, quantitativ passiv durch die Mukosazellen diffundiert und unverändert im Blut erscheint. Mittels passiver Diffusion kann es ebenfalls weiter in die Zielzellen (z.B. Nervenzellen) gelangen oder die Blut-Hirn-Schranke überwinden und sich im Gehirn anreichern. Erst im Zielgewebe wird SBT durch eine Thioesterase debenzoyliert und in Thiamin umgewandelt, welches anschließend von der Thiamin-Pyrophosphokinase in die aktive Coenzymform TDP umgewandelt wird. Diese Vorgänge konnten bereits in den 60er Jahren experimentell nachgewiesen werden. Beispielsweise konnte durch luminale Bleiphosphat-Präzipitation gezeigt werden, dass der Phosphatrest vor Membranpassage durch epithelständige Phosphatasen abgespalten wurde (Mizuhira und Uchida 1968, zit. nach Anonym, 1996). Yamazaki (1968) zeigte an Gewebshomogenaten der Ratte, dass die Phosphatgruppe des BTMP durch die alkalische Phosphatase der Darmmukosa schnell hydrolysiert wurde, während die *S*-Benzoyl-Gruppe des BTMP vor der Hydrolyse der Phosphatgruppe kaum enzymatisch gespalten wurde. Zu dem Ansatz mit dem Darmhomogenat zugegebenes frisches Leberhomogenat führte zur Entstehung von freiem Thiamin, während gekochtes keine Wirkung hatte (Itokawa et al., 1992). Somit sind an der Debenzoylierung von BTMP bzw. SBT zu Thiamin vermutlich Enzyme beteiligt, die durch Erhitzen denaturiert und inaktiviert wurden. Die Erklärung besteht darin, dass die Phosphatgruppe des BTMP die Hydrolyse der *S*-Benzoyl-Brücke verhindert, wahrscheinlich aufgrund sterischer Faktoren in der Enzym-Substrat-Assoziation (Yamazaki, 1968). Aufgrund der im Vergleich zur Phosphatase niedrigeren Aktivität der Thioesterase, reicherte sich SBT im Reaktionsansatz mit dem Darmhomogenat an (Yamazaki, 1968). *In-vitro*-Versuche zeigten, dass BTMP nur sehr langsam in die Erythrozyten gelangt (Itokawa et al., 1992). SBT dagegen wird *in vitro* sehr schnell in die Erythrozyten aufgenommen (Shindo et al. 1968, zit. nach Ziems, 1997). Die Erklärung liegt in den physikalischen Eigenschaften der beiden Verbindungen. Durch Ligatur eines Darmabschnittes konnten diese Ergebnisse auch *in*

situ an Hunden bestätigt werden (Shindo et al., zit. nach Ziems, 1997). Nach Perfusion des Darmabschnittes mit BTMP stieg in der Mesenterialvene der Gehalt an SBT an. Gleichzeitig konnte in den Erythrozyten ein erhöhter Thiamingehalt festgestellt werden. Als Resorptionsmechanismus oral verabreichten BTMPs wird seither angenommen, dass es unverändert zur Darmmukosa gelangt, dort luminal dephosphoryliert wird und als lipophiles SBT in den Blutkreislauf bis zur Zielzelle gelangt, wo es durch eine Thioesterase zu Thiamin umgewandelt wird. Diese Vorstellung wird durch die Ergebnisse von Ziems (1997) unterstützt, die mit Hilfe einer modifizierten HPLC-Methode nachweisen konnte, dass nach einmaliger Verabreichung von BTMP an gesunde Probanden das SBT im Vollblut längere Zeit unverändert erhalten blieb.

2.2.3 Pharmakokinetik

Die in der Literatur beschriebenen Untersuchungen zur Pharmakokinetik des BTMP sind meist Studien zu seiner Bioverfügbarkeit im Vergleich zu wasserlöslichen Thiaminsalzen und/oder anderen lipophilen Thiaminderivaten. Verglichen werden die nach Applikation zu beobachtenden Thiaminkonzentrationen in den verschiedenen Matrices, wie Plasma, Vollblut oder Urin, d.h. die Bestimmung nicht-kompartimentgebundener pharmakokinetischer Parameter steht im Mittelpunkt.

Die frühesten Studien sind in etwa zeitgleich mit der beginnenden Synthese des BTMP für kommerzielle Zwecke durchgeführt worden. Wada et al. (1961) untersuchten die Gesamthiamin- und TDP-Konzentrationen im Blut von Hunden und im 24-h-Urin von gesunden Probanden nach oraler Verabreichung verschiedener Dosen BTMP bzw. T-HCl. Im Blut der Versuchstiere konnten signifikant höhere und länger anhaltende Gesamthiamin- und TDP-Konzentrationen nach Gabe von BTMP beobachtet werden, obwohl keine äquimolare Dosierung, d.h. weniger BTMP gegeben wurde. Die Spannbreite der Thiaminausscheidung bewegte sich bei den Probanden dosisabhängig zwischen 21 und 34% nach Gabe von BTMP im Vergleich zu 2,9 - 29% nach Gabe von T-HCl und spiegelt somit die deutlich bessere Resorption von BTMP wider.

Tabelle 2-5 Durchschnittlicher Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin im Vollblut (ng/ml) nach Verabreichung verschiedener Dosen BTMP und T-HCl im Vollblut von 12 Patienten (nach Masson et al., 1966)

Gesamthiamin	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
100 mg T-HCl i.m.	79	480	210	206	190
100 mg BTMP p.o.	94	409	275	355	272
Freies Thiamin	0 h	3 h	4 h	6 h	8 h
100 mg T-HCl i.m.	24	363	120	108	71
100 mg BTMP p.o.	22	268	140	222	115

Masson et al. (1966) untersuchten bei 12 Patienten mit alkoholischer Polyneuropathie, Patienten mit Magengeschwüren und Patienten, die an verschiedenen alkoholunabhängigen neurologischen Sym-

ptomen litten, die Bioverfügbarkeit von jeweils 100 mg BTMP p.o. und 100 mg T-HCl i.m.. Die orale Gabe von BTMP führte auch hier zu länger anhaltenden Konzentrationen an freiem Thiamin und Gesamtthiamin im Vollblut (Tab. 2-5).

Nogami et al. (1970) bestimmten die Elimination von Gesamtthiamin aus dem Rattenblut nach intravenöser Administration verschiedener Thiaminderivate (BTMP, Thiaminpropyldisulfid – TPD und Cyclocarbothiamin – CCT) im Vergleich zur intravenösen Injektion von freiem Thiamin. Es wurden das Verteilungsvolumen (V_D) nach einem Ein-Kompartiment-Modell bzw. das Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments nach einem Zwei-Kompartiment-Modell (V_C) und die Eliminationskonstante berechnet. Die Umwandlungsrate von TPD und CCT zu Thiamin erfolgte im Vergleich zu BTMP sehr schnell. Die Eliminationskonstanten belegen, dass das aus BTMP und TPD gebildete Thiamin sehr langsam aus dem Blut der Ratte eliminiert wird (Tab. 2-6).

Tabelle 2-6 Verteilungsvolumen und Eliminationskonstante (k_{el}) von Thiamin nach Umsatz aus Thiaminpropyldisulfid (TPD), Cyclocarbothiamin (CCT) und BTMP (nach Nogami et al., 1970)

Substanz	V_D (ml)	V_C (ml)	k_{el} (h^{-1})
Thiamin aus TPD	37,5	-	0,145
Thiamin aus BTMP	93,5	-	0,151
Thiamin aus CCT	-	187,5	1,61
Thiamin i.v.	-	256,1	1,98

Bitsch et al. (1991) untersuchten in einer Cross-over-Studie die Bioverfügbarkeit von BTMP im Vergleich zu T-NO₃. Dazu erhielten 10 gesunde Männer eine orale Einmalapplikation von 40 mg BTMP bzw. 100 mg T-NO₃. Die Konzentrations-Zeit-Kurven des Gesamtthiamins wurden über 10 h verfolgt. Nach einer 14tägigen Auswaschphase wurde die Studie im Cross-over-Design wiederholt. Die relative Bioverfügbarkeit des BTMPs im Vergleich zu der von T-NO₃ war bei Betrachtung der mittleren Flächen unter den Blutspiegelkurven (AUC) signifikant höher; im Plasma war die AUC nach Gabe von BTMP um 55% und im Vollblut um 99% größer. Auch die maximale Gesamtthiaminkonzentration nach Gabe von BTMP übertraf diejenige nach Gabe von T-NO₃ um 67% (Plasma) bzw. 193% (Vollblut), obwohl die oral verabreichte BTMP-Dosis, bezogen auf den molaren Thiamingehalt, nur 28% der T-NO₃-Dosis betrug. Überdies wiesen Bitsch et al. (1991) in ihrer Studie nach, dass das aus BTMP gebildete Thiamin physiologisch voll wirksam ist, indem es die ETKA sowie deren *in-vitro*-Aktivierbarkeit (α -ETK) normalisierte.

Für den exakten Vergleich der Bioverfügbarkeit von BTMP gegenüber wasserlöslichen Thiaminsalzen untersuchten Schreeb et al. (1997) die Pharmakokinetik des resultierenden Gesamtthiaminspiegels im Vollblut und Plasma nach Gabe äquimolarer Mengen von BTMP und T-NO₃. In einer doppelblinden Cross-over-Studie verabreichten sie 12 gesunden Probanden 100 mg BTMP bzw.

70,2 mg T-NO₃ p.o. (entspricht jeweils ca. 210 µmol Thiamin). Die mittlere AUC_{0-10h} im Plasma war nach Gabe von BTMP fünfmal größer als nach T-NO₃. Die mittlere C_{max} im Plasma war nach BTMP 6,7fach größer als nach T-NO₃. Der Thiamingehalt in den Erythrozyten zum Zeitpunkt t_{max} übertraf nach Verabreichung von BTMP denjenigen nach T-NO₃ um 233%.

Bezüglich der Frage, ob BTMP gegenüber den anderen lipophilen Thiaminderivaten eine erhöhte Bioverfügbarkeit aufweist, liegt nur eine Studie vor (Greb und Bitsch, 1998). Sie applizierten BTMP, TTFD und TDS an sieben gesunde Probanden und führten mit diesen drei Thiaminderivaten Cross-over-Tests zur Bioäquivalenz durch. Nach oraler Applikation von entweder 100 mg BTMP, TTFD oder TDS wurden die Konzentrations-Zeit-Kurven des Gesamtthiamins in Plasma und Hämolytat über 10 Stunden verfolgt, zusätzlich wurde der 24-h-Urin gesammelt und die ETKA/α-ETK bestimmt. Die relative Bioverfügbarkeit (Test/Referenz) wurde anhand des Verhältnisses der dosisnormierten AUC und C_{max} überprüft. Das TTFD/BTMP-Verhältnis der dosisnormierten AUC bewegte sich zwischen 0,07 und 0,95 (Median 0,36; Hämolytat) bzw. zwischen 0,03 und 0,47 (Median 0,19; Plasma). Die entsprechenden Verhältnisse für C_{max} betragen 0,29 – 1,07 (Median 0,55; Hämolytat) bzw. 0,07 – 0,55 (Median 0,33; Plasma). Die individuellen TDS/BTMP-Verhältnisse lagen generell unter 0,28, die analogen C_{max}-Verhältnisse unter 0,52. Anhand der vorgegebenen Entscheidungskriterien konnte die Bioinäquivalenz nicht angenommen werden, da die statistischen Konfidenzintervalle der AUC-, C_{max}- und t_{max}-Werte für TTFD nicht vollständig aus dem Intervall von ± 20% um den Referenzwert des Vergleichspräparates fielen. Greb und Bitsch (1998) merken an, dass die beobachtete große interindividuelle Varianz der Messwerte ein eher unberechenbares Verhalten des TTFD impliziert, was in einem stärker individuell geprägten Absorptionmuster resultiert und somit ein starkes Argument gegen die Bioäquivalenz ist. Allerdings wurde ein statistisch signifikanter Unterschied in der Thiaminausscheidung nur zwischen BTMP (Mittelwert 6,8 mg) und TDS (Mittelwert 1,1 mg), nicht jedoch zwischen BTMP und TTFD (Mittelwert 4,3 mg) nachgewiesen. Die ETKA war acht Stunden nach Gabe von BTMP und TTFD jeweils signifikant erhöht, nicht jedoch nach Gabe von TDS. Da aus der Studie ebenfalls nicht hervorgeht, ob die Varianzanalyse auch die Untersuchung von Periodeneffekten eingeschlossen hat bzw. da sie mit geringerer als geforderter Stichprobengröße (vgl. Anonym, 1987) durchgeführt wurde, gilt die Hypothese der besseren Bioverfügbarkeit als nicht ausreichend belegt.

Ziems (1997) gelang es durch Entwicklung und Validierung geeigneter Methoden, die Metabolisierung des BTMP nach einem Mehr-Kompartiment-Modell mit Submodellen zu beschreiben, in dem alle messbaren Metaboliten miteinander verknüpft dargestellt wurden. In ihrer pharmakokinetischen Studie verabreichte Ziems (1997) 10 gesunden Probanden 250 mg BTMP p.o. und verfolgte die Vollblutkonzentrationen der Thiaminphosphatester, BTMP und SBT und bestimmte im 24-h-Urin

freies Thiamin, TMP und Hippursäure. Die mittlere Thiaminverlaufskurve hatte ihr Maximum mit 336,6 ng/ml nach 1 Stunde und die TDP-Verlaufskurve mit 114,3 ng/ml nach 6 Stunden im Vollblut erreicht. Die C_{\max} und die dazugehörige t_{\max} betragen für BTMP und SBT jeweils 5,0 ng/ml (1,5 h) bzw. 53,5 ng/ml (1,5 h). Es konnte nachgewiesen werden, dass BTMP nicht im Enterozyten oder Hepatozyten des Menschen vollständig zu Thiamin metabolisiert wird, sondern als intakte Substanz und in Form des stark lipophilen Metaboliten SBT im Blut zirkuliert, sowie im Gewebe verteilt und retiniert wird (vgl. 2.2.2). Hieraus kann es bei Bedarf wieder in den zentralen Kreislauf abgegeben werden, was an einer starken Oszillation der Blutspiegelkurven erkennbar war.

2.3 Implikationen der chronischen Niereninsuffizienz für die Pharmakokinetik von Thiamin

2.3.1 Auswirkungen der chronischen Niereninsuffizienz auf den Thiaminstatus

Das Krankheitsgeschehen der CRF/ESRD ist ein dynamischer Prozess mit spezifischen metabolischen, hormonellen und biochemischen Veränderungen. Obwohl die Dialyse als Standard-Nierenersatztherapie toxische Metaboliten entfernt, die metabolische Azidose, die Elektrolytimbalancen und den Appetit korrigiert, wird bei ungefähr 50% der ESRD-Patienten eine Malnutrition diagnostiziert, die wiederum mit einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko assoziiert ist (Pastan und Bailey, 1998). Auch die Verfügbarkeit vieler Mikronährstoffe wird negativ beeinflusst, wobei, wie im Folgenden dargelegt wird, die Datenlage, auf die sich gegenwärtige Praxis der Routinesupplementierung mit Vitaminen gründet, keineswegs ausreichend ist. Während einerseits die fettlöslichen Vitamine bei urämischen Patienten im Plasma akkumulieren können, was die Gefahr einer Hypervitaminose nach sich zieht, tendieren urämische Patienten andererseits dazu, einen Mangel an wasserlöslichen Vitaminen zu entwickeln. Neben der Möglichkeit, dass die häufig zu beobachtende urämische Gastroenteropathie zu Resorptionsstörungen der Vitamine führt, werden prinzipiell zwei Möglichkeiten für die Gefahr der Mangelversorgung mit wasserlöslichen Vitaminen diskutiert. (1) Da wasserlösliche Vitamine bevorzugt in protein- und phosphorreichen Lebensmitteln, wie Fleisch, Milch und Getreideprodukten vorkommen, führen die notwendigen diätetischen Restriktionen zur Begrenzung der Proteinzufuhr im konservativen Behandlungsstadium oder bei HD-Patienten in der Phase der Shuntreifung dazu, dass nur unzureichende Mengen mit der Nahrung zugeführt werden (Porrini et al., 1989). Eine proteinarme Basisdiät, die eine adäquate Zufuhr von Thiamin, Riboflavin, Niacin, Biotin und Pantothersäure gewährleistet, enthält jedoch mindestens 60 g Protein (Makoff, 1991). Hierbei verursachen nicht nur das Meiden proteinreicher Lebensmittel, sondern auch die eventuell erforderlichen auslaugenden Zubereitungstechniken zur Verminderung des Kaliumgehaltes eine unzureichende Zufuhr. Nach neueren Untersuchungen an ESRD-Patienten erreicht die Höhe der täglichen Thiamin-, Riboflavin-, Folsäure- und Pyridoxinzufuhr nur jeweils 63%/69%/44% bzw. 57% der DGE-Empfehlungen (Gebhardt, 1990). (2) Bei Dialysepatienten, bei denen die Proteinzufuhr nicht mehr limitiert werden muss, besteht die Möglichkeit, dass

Vitaminverluste über das Dialysat vorkommen, da diese Moleküle – mit Ausnahme von Cobalamin – klein genug und teilweise nicht proteingebunden sind, um die Dialysemembran zu passieren (Porrini et al., 1989). Verschiedene Studien widerspiegeln die Tatsache, dass sich die Gehalte wasserlöslicher Vitamine im Blut, insbesondere von Folsäure und Ascorbinsäure, unter Dialysebehandlung ändern (z.B. Stein et al., 1985, Kopple und Swendseid, 1975, Sullivan und Eisenstein, 1972, Sullivan et al., 1972, Stone et al., 1975, Lacour et al., 1983, Minar et al., 1984, Böttcher, 1991, Pietrzak, 1995b). Die Veränderungen der Vitaminkonzentrationen durch die Dialyse, insbesondere von Thiamin, sind allerdings nicht konsistent; verschiedene Autoren weisen gleichwohl darauf hin, dass normale Blutkonzentrationen nicht ein Indiz dafür sind, dass keine Verluste auftreten, sondern eher als Kompensation der Vitaminverluste durch eine schnelle Mobilisation aus dem Gewebe gewertet werden müssen (Stein et al., 1985, Wolk, 1993). Auch kann durch die verminderte Ausscheidung über die Niere die reduzierte Aufnahme bis zu einem gewissen Grad kompensiert werden (Kopple und Swendseid, 1975). Aufgrund der Natur der Peritonealmembran, den höheren Verlusten an Proteinen, Aminosäuren und anderen Nährstoffen, die bei der Peritonealdialyse größer sind als bei HD, sind prinzipiell auch Peritonealdialyse-Patienten von der Gefahr der Vitaminmangelversorgung betroffen (Sullivan et al., 1972). Für die Auswirkungen der CRF/ESRD auf die Versorgung mit wasserlöslichen Vitaminen sind unter praktischen Gesichtspunkten weitere Faktoren zu berücksichtigen: Die Unfähigkeit oder mangelnde Compliance bei der Zubereitung bzw. Einhaltung der diätetischen Maßnahmen, der Appetitverlust aufgrund der Niereninsuffizienz, damit verbundener Begleiterkrankungen oder aufgrund schlechter Schmackhaftigkeit der Nierendiät führen regelmäßig zu einer verminderten Zufuhr; nicht zuletzt führen hohe Gehalte an urämischen Toxinen und Metaboliten in der systemischen Zirkulation, die die Vitaminaktivität verändern oder gar hemmen können, sowie das Ausmaß der Restnierenfunktion dazu, dass der Vitaminbedarf von Patienten mit ESRD erhöht ist (Stein et al., 1985, Makoff, 1991).

Die Thiaminkonzentrationen im Plasma zeichnen sich bei den chronisch niereninsuffizienten Patienten – wie bei gesunden Personen - durch einen großen Wertebereich aus (Tab. 2-7). Ältere Daten zeigen einen nicht-signifikanten 10-14%igen Abfall der Thiamin-Plasmakonzentrationen bei nicht-supplementierten Patienten nach einer HD-Behandlung (Niwa et al., 1975). Auch neuere Untersuchungen können zeigen, dass Dialysepatienten ohne Supplementierung normale Thiaminkonzentrationen im Plasma oder in den Erythrozyten aufweisen, sofern die entsprechenden diätetischen Voraussetzungen erfüllt sind (Pietrzak, 1995a, Pietrzak und Baczyk, 1997, Stein et al., 1985, Ramirez et al., 1986a, Ramirez et al., 1986b). *In-vitro*-Dialyseversuche mit Thiamin, das zum Plasma zugesetzt wurde, zeigten zunächst, dass es relativ schnell aus dem Plasma entfernt werden kann (Niwa et al., 1975).

Tabelle 2-7 Gesamthiaminkonzentrationen im Plasma von un-supplementierten gesunden Personen im Vergleich zu chronisch niereninsuffizienten Patienten (Mittelwert \pm SD bzw. Wertebereich)

Stadium	ng/ml	Referenz
Gesunde [†]	3,9 (2,2-14,5)	Weber und Kewitz, 1985
Gesunde [†]	21 (18-62)	Stein et al., 1985
CRF	-	-
RT	-	-
HD [‡]	27 (11-41)	Ramirez et al., 1986b
HD	29,2 \pm 14,4	DeBari et al., 1984
HD	3,8 \pm 0,7	Bötticher, 1991
HD	76,3 \pm 1,3	Pietrzak und Baczyk, 1997
HD	24,9 \pm 18,3	Stein et al., 1985
Peritonealdialyse	32,6 \pm 16,2	Stein et al., 1985

[†] Median (Wertebereich), - nicht gemessen, [‡] 1 Mo. nach Beendigung der Supplementierung (Mittelwert und Wertebereich, jeweils aus Grafik bestimmt)

Im Gegensatz dazu betrug die mit den heute nicht mehr gebräuchlichen *Kiil-and-Kolff*-Zwillingsschleifen-Dialysatoren bei chronischen HD-Patienten bestimmte Plasmaclearance von Thiamin (*engl.* dialysance), d.h. das Vermögen, durch die Dialyse entfernt zu werden, 13 ml/min, was im Vergleich zu anderen wasserlöslichen Vitaminen relativ niedrig ist (Kopple und Swendseid, 1975). Unter anderem wird heute deswegen davon ausgegangen, dass der dialysebedingte Thiaminverlust den durch die normale Urinausscheidung bedingten nicht nennenswert übersteigt (Stein et al., 1985). Berichtete Fälle eines klinisch manifesten Thiaminmangels bei Dialysepatienten sind demzufolge extrem selten (z.B. Akute Wernicke Enzephalopathie bei Descombes, 1991). Das Ausmaß eines durch die Dialyse zu erwartenden Vitaminverlustes hängt von vielen Faktoren ab. Im Einzelnen werden genannt: die Molekülausschlussgrenze der Dialysemembran, das Alter wiederverwendeter Membranen, die Molekülgröße im Verhältnis zur Porengröße der Membran, verwendete Blutfluss-(QB) und Dialysat-Flussraten (QD), die Häufigkeit der Dialysebehandlung, die Zusammensetzung des Dialysats, die Proteinbindung der Vitamine und die Höhe der Vitaminkonzentration im Blut (Makoff, 1991, Stein et al., 1985). Bei der Peritonealdialyse beeinflussen vor allem die Molalität des Dialysats, die die Aktivität der Austauschprozesse bestimmt, und die Art und Dauer der Begleitinfektionen das Ausmaß des Vitaminverlustes (Makoff, 1991). Untersuchungen zum Einfluss der genannten Faktoren sind allerdings mit Dialysemaschinen gewonnen worden, die heute nicht mehr gebräuchlich sind (s.o.), so dass die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Verhältnisse in modernen Dialyseeinheiten nicht möglich ist (Stein et al., 1985). Zum Einfluss unterschiedlicher Dialysemembranen auf den Status wasserlöslicher Vitamine bei HD-Patienten gibt es ohnedies nur wenige neuere Untersuchungen (Descombes et al., 1993, Jung et al., 1998, Böhm et al., 1997). Nach einer Einzelbehandlung konnte sowohl bei supplementierten als auch nicht-supplementierten HD-Patienten jeweils ein Abfall der Biotin- und Ascorbinsäurekonzentrationen im Plasma nachgewiesen werden, der jedoch 44 Stunden, d.h. zu Beginn der nächsten HD-Behandlung, wieder ausgeglichen war, was

im obigen Sinne für eine schnelle Mobilisation aus peripheren Speichern spricht (Jung et al., 1998, Böhm et al., 1997). Die erhöhte molekulare Clearance, die mit dem Gebrauch heute gebräuchlicher, effizienterer Membranen mit größerer Molekülausschlussgrenze einhergeht, lässt eine höhere Wahrscheinlichkeit von Vitaminverlusten einschließlich proteingebundener Vitamine vermuten. Die Dauer und Frequenz der Dialysebehandlung, QD und QB oder die verwendete Membran (Low-flux versus High-flux) hatten aber keinen Einfluss auf die Biotin- oder Ascorbinsäuregehalte im Plasma (Jung et al., 1998, Böhm et al., 1997). Descombes et al. (1993) untersuchten bei HD-Patienten den Einfluss verschiedener Faktoren, u.a. auch des Membrantyps (Zelluloseacetat versus Polyacrylnitril), auf den Status verschiedener wasserlöslicher Vitamine. Beim Thiamin konnte, sowohl bei supplementierten als auch nicht-supplementierten Patienten, lediglich ein signifikanter Einfluss des Membrantyps auf den Versorgungszustand gesichert werden: HD-Patienten, die mit Polyacrylnitrilmembranen dialysiert wurden, zeigten eine signifikant niedrigere ETKA als die Patienten, bei denen Zelluloseacetatmembranen verwendet wurden (Descombes et al., 1993). Es liegen ebenfalls nur wenige Daten zum Einfluss neuerer Methoden der Detoxifikation (Hämofiltration, Plasmapherese und Hämo-perfusion) auf den Status wasserlöslicher B-Vitamine vor. Gemessen am TPP-Effekt als funktionellem Indikator des Thiaminstatus, konnte nach Anwendung einer Hämo-perfusion im Vergleich zur HD keine Verschlechterung des Thiaminstatus beobachtet werden (Mydlik et al., 1986).

2.3.2 *Auswirkungen der chronischen Niereninsuffizienz auf die Pharmakokinetik von Thiamin*

Thiamin wird – wie viele Pharmaka – im Plasma in mehr oder weniger großem Ausmaß an Albumin gebunden. Sowohl bei HD- als auch Peritonealdialyse-Patienten wird häufig eine Hypoalbuminämie diagnostiziert (Kaysen, 1998). Bei der Peritonealdialyse tragen die kontinuierlichen Albuminverluste über den Urin und über die Peritonealmembran zur Hypoalbuminämie bei, während bei HD-Patienten die Albuminsynthese als Ergebnis der entzündlichen Akut-Phase-Reaktion und inadäquater Ernährung vermindert ist (Kaysen, 1998). Somit kann das Ausmaß der Proteinbindung und damit die Pharmakokinetik verändert sein (Fichtl et al., 1996). Es besteht grundsätzlich auch die Möglichkeit, dass bei klinisch signifikanten Veränderungen der Nierenfunktion die Verteilungsvorgänge sowohl des „parent drug“ als auch seiner Metaboliten durch nicht-renale Eliminationsprozesse beeinflusst wird (Touchette und Slaughter, 1991). Die Grundlage dafür bildet das hepatorenale Syndrom, das definiert ist als Entwicklung einer Niereninsuffizienz auf dem Boden schwerer Lebererkrankungen, ohne dass irgendwelche pathologische Befunde der Nierenfunktion vorliegen (Moore, 1997). Viele Studien haben gezeigt, dass bei Urämie eine niedrige hepatische Clearance einiger Arzneimittel resultiert (Touchette und Slaughter, 1991). Dieses noch wenig verstandene Phänomen führt zu einer größeren systemischen Bioverfügbarkeit für oral applizierte Stoffe. In ihrer hervorragenden Übersichtsarbeit zeigten Touchette und Slaughter (1991), dass insbesondere Arzneimittel, die durch Oxidation und/oder Konjugation metabolisiert werden, zu einer niedrigen hepatischen

Clearance bei Urämie prädisponiert sind. Ein Analogieschluss aufgrund der durch die Verbindung zwischen Leber und Niere gegebenen Beziehung auf die veränderte Pharmakokinetik von körpereigenen Substanzen bei Urämie ist allerdings schwierig. Im Unterschied zu Arzneimitteln haben auf die Pharmakokinetik von Vitaminen allgemein folgende Faktoren einen Einfluss: reversible systemische Interkonversionen, aktive und passive Transportvorgänge, asymmetrische Verteilung bei spezifischen Speicherorganen, Geschlechtsdifferenzen, renale Schwellenwerte, kontinuierliche Zufuhr mit der Nahrung, Füllungszustand der Speicher und Rückkopplungsmechanismen (Marzo und Rescigno, 1993). Durch diese Vielzahl von Faktoren kann es zu einer nicht erklärbaren Erhöhung der Gesamtvarianz kommen, wodurch mögliche Unterschiede in der Pharmakokinetik von Vitaminen zwischen Gesunden und Kranken überdeckt werden können. Für Thiamin gibt es als direkten Beleg für die geänderte Albuminbindung lediglich einen Hinweis, wonach der Anteil der CL_R an der systemischen Clearance bei niereninsuffizienten Patienten vermindert war und, im Vergleich zu Gesunden, bei niedrigerer Dosierung höhere AUC-Werte des freien Thiamins im Plasma resultierten (Weber und Kewitz, 1985). Bezüglich der veränderten Pharmakokinetik von Thiamin ist außerdem zu beachten, dass die Niere, neben der Leber, der wichtigste Ort der Phosphorylierung und Speicherung für Thiamin ist. Tallaksen et al. (1992a) untersuchten die Phosphorylierung von Thiamin bei Alkoholikern mit Leberzirrhose im Blut und Plasma mittels HPLC, jeweils vor und 24 Stunden nach einer intramuskulären Applikation von 100 mg T-HCl. Bei gesunden Kontrollpersonen wurde dieselbe Applikationsform und Dosis angewandt. Verglichen mit den Kontrollpersonen war bei den Patienten der Phosphorylierungsgrad des Thiamins erniedrigt. Außerdem war der Anstieg der freien Thiaminkonzentration im Plasma nach der Injektion viel ausgeprägter als bei den gesunden Kontrollpersonen. Somit ist die Leberzirrhose an sich mit niedrigen TDP-Konzentrationen und einem erniedrigten Thiamin-Phosphorylierungsgrad assoziiert (Tallaksen et al., 1992a). Im Sinne der obigen Überlegungen schreiben Tallaksen et al. (1992a) diesen Effekt einem Defekt tubulärer Exkretionsmechanismen sowie einer pathologisch veränderten Proteinbindungskapazität bei Lebererkrankungen zu, d.h. eine Veränderung der Pharmakokinetik hoher Thiamindosen ist auch bei Nierenerkrankungen nicht auszuschließen.

2.4 Methodische Überlegungen zur Analytik

2.4.1 Nachweis und Quantifizierung des Thiamins im Blut

Die gebräuchlichste Methode der Thiaminanalytik basiert auf der irreversiblen, alkalischen Oxidation von Thiamin und/oder seinen Phosphateestern zum fluoreszierenden Thiochrom bzw. Thiochromphosphateestern. Gekoppelt mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) und anschließender fluorimetrischer Detektion, die die Trennung der Thiochromphosphatester von anderen fluoreszierenden Verbindungen erlaubt, gilt dieses Verfahren für die Quantifizierung von Thiamin in organischen Matrices aufgrund der hohen Spezifität, Sensitivität und reduzierter Analysenzeit

als Methode der Wahl (vgl. Übersichten bei Finglas und Faulks, 1987, Kawasaki, 1992a, Fayol, 1997). Die fluorimetrische Detektion besitzt – im Vergleich zur Messung der Eigenabsorption im UV-Bereich – ein hohes Maß an Empfindlichkeit und Spezifität, da die Nachweisgrenze um mehrere Zehnerpotenzen sinkt und sich so auch die geringen Thiamingehalte im Plasma messen lassen (Ishii et al., 1979, Weber und Kewitz, 1985, Royer-Morrot et al., 1992, Mascher und Kikuta, 1993). Verschiedene Methoden sind gebräuchlich, womit die einzelnen Thiaminphosphorsäureester (Ishii et al., 1979, Brunnekreeft et al., 1989, Tallaksen et al., 1991, Bontemps et al., 1984) oder das Gesamthiamin nach prächromatographischer Dephosphorylierung quantifiziert werden können (z.B. Bötticher und Bötticher, 1986). Letztere Methoden erfordern den Einsatz von Phosphatasen („Taka-Diastase“, „Clara-Diastase“, α -Amylase), deren Wirksamkeit bezüglich der Thiaminfreisetzung aus den Phosphorsäureestern schwanken kann (vgl. Wolf, 1995). Die Bestimmung des Gesamthiamins durch Aufsummierung aller Thiaminphosphorsäureester und des freien Thiamins kann mit Fehlern behaftet sein, da für die einzelnen Derivate unterschiedliche maximale Fluoreszenzintensitäten im Emissionsbereich existieren (Ishii et al., 1979). Das würde dazu führen, dass einzelne Fraktionen nicht die optimale Fluoreszenzintensität entfalten und als kleinerer Peak erfasst werden. Das Ausmaß dieses Fehlers ist allerdings in der Praxis als sehr gering einzustufen (Ishii et al., 1979).

Die Bestimmung der Thiaminphosphorsäureester im Plasma bzw. Blut ist notwendig, wenn pharmakokinetische Studien zum Thiamin durchgeführt werden, weil dessen Interkonversionen als Verteilungsvorgänge in tiefere Kompartimente aufgefasst werden können (Bettendorff, 1991, vgl. Abschnitt 2.1.2) und Änderungen des Phosphorylierungsgrades ein Symptom der veränderten Pharmakokinetik bei pathologischen Zuständen sind (Tallaksen et al., 1991, vgl. Abschnitt 2.3.2). Zur Überprüfung des Einflusses verschiedener Faktoren auf die Bioverfügbarkeit von Thiamin während der Dialysebehandlung ist es allerdings ausreichend, den Gesamthiamingehalt zu quantifizieren.

2.4.2 *Transketolaseaktivität*

Die Messung der erythrozytären Transketolaseaktivität (ETKA) ist in der Anwendung weit verbreitet und wird als der beste funktionelle Test zum Thiaminstatus angesehen (Vuilleumier et al., 1991, Anonym, 2000b). Die Bestimmung der ETKA zählt deshalb auch, neben der Bestimmung des TDP-Gehaltes in den Erythrozyten, zu den empfohlenen Methoden zur Bestimmung des Thiaminstatus (van den Berg, 1997). Die Begründung liegt darin, dass mit der Vitaminkonzentration als solcher kein funktioneller Aspekt verknüpft ist, d.h. sie bezieht sich nicht direkt auf eine funktionelle Beeinflussbarkeit oder Veränderung sondern reflektiert eher Gewebespeicher. Anhand der ETKA kann direkt der Grad der Sättigung des Apoenzyms mit dem Coenzym überprüft werden. Im Rahmen von pharmakokinetischen Untersuchungen erlauben die messbaren Veränderungen der ETKA (zu-

nehmende ETKA und abnehmende *in-vitro*-Stimulation) während eines bestimmten Zeitintervalls Aussagen über die tendenzielle Entwicklung des individuellen Thiaminstatus (Wolf, 1995). Da außerdem TDP überwiegend in den Erythrozyten lokalisiert ist (vgl. Abschnitt 2.1.2), dient die Bestimmung der ETKA bzw. α -ETK als wichtiger Parameter der intrazellulären TDP-Verfügbarkeit und damit gleichzeitig als Maßstab zur Einschätzung des therapeutischen Potenzials (Bitsch et al., 1991, Greb und Bitsch, 1998, Greb und Bitsch, 1995).

2.4.3 Bestimmung des TDP-Gehaltes in den Erythrozyten

Im Unterschied zur Transketolaseaktivität wird der *direkten* Messung des TDP-Gehaltes in den Erythrozyten eine große Bedeutung beigemessen, da sie es erlaubt, Informationen über die Größe der intrazellulären Körperspeicher an TDP zu gewinnen. Die Erythrozyten gelten nicht nur als leicht zugängliches Kompartiment, sondern Verringerungen ihres Gehaltes an TDP im Falle eines Thiaminmangels geschehen auch mit derselben Rate wie in anderen Geweben, wodurch die Erythrozyten den Thiaminbestand im Körper gut widerspiegeln (Anonym, 2000b). Es sind Formeln erhältlich, mit denen der TDP-Gehalt in den Erythrozyten aus den entsprechenden Gehalten im Vollblut und Plasma unter Verwendung des Hämatokrits berechnet werden kann (Chen et al., 1986).

3 Ableitung der Ziele der Arbeit

Die verminderte hepatische Clearance vieler Arzneimittel beim hepatorenenalen Syndrom macht deutlich, dass Änderungen der Interkonversionsdynamik der Thiaminphosphorsäureester mit den entsprechenden Folgen für die intrazelluläre Verfügbarkeit von TDP, wie sie bei Patienten mit Leberzirrhose nachgewiesen werden konnten (vgl. Abschnitt 2.3.2), zu veränderten pharmakokinetischen Eigenschaften von arzneilich angewendeten Thiaminderivaten bei ESRD-Patienten führen können.

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, allgemeine Daten zur Bioverfügbarkeit von oral applizierten hydrophilen (T-NO₃) und lipophilen Thiaminderivaten (BTMP) bei urämischen Patienten durch eine klinische Studie zu gewinnen (Kap. 2, Abschnitt 4). Anschließend sollten mit Hilfe pharmakokinetischer Modelle die Beziehungen zwischen den Thiaminphosphorsäureestern unter urämischen Bedingungen mit anschließender mathematischer Auswertung aller verfügbaren Konzentrations-Zeit-Kurven erklärt werden. Die dafür notwendige Teilaufgabe bestand in folgenden Punkten:

- Modifikation einer HPLC - Methode zur simultanen Quantifizierung von Thiamintriphosphat (TTP), Thiamindiphosphat (TDP), Thiaminmonophosphat (TMP) und Thiamin und die dafür erforderliche Validierung.
- Validierung des Transketolase-Assay.

Die sich anschließende pharmakokinetische Studie sollte folgende Fragen beantworten:

- Wie wirkt sich die orale Applikation von BTMP und T-NO₃ auf die Vollblut- und Plasmakonzentrationen von TDP, TMP und Thiamin aus? Wie hoch ist die Wiederfindung im Urin und können aus der Thiaminausscheidung Rückschlüsse über die Höhe der Absorption gezogen werden?
- Wie wirkt sich die Applikation von BTMP und T-NO₃ auf die Aktivität der erythrozytären Transketolase und die intrazelluläre TDP-Anreicherung aus? Lassen sich Beziehungen zwischen den funktionellen Parametern (ETKA, α -ETK) des Thiaminstatus und den TDP-Konzentrationen herstellen und ggf. Abweichungen der Transketolase im urämischen Zustand feststellen?
- Kann ein biokinetisches Modell entwickelt und Parameter berechnet werden, mit deren Hilfe die Metabolisierung, Verteilung und Elimination von Thiamin bei niereninsuffizienten Patienten aussagekräftig mathematisch beschrieben werden können?

Obwohl sich die Routinesupplementierung mit verschiedenen wasserlöslichen Vitaminen als fester Bestandteil der Ernährungstherapie niereninsuffizienter Patienten etabliert hat, ist die empirische Evidenz für dieses Vorgehen, insbesondere im Falle des Thiamins, kontrovers (vgl. Abschnitt 2.3.1). Die der Supplementierungspraxis zugrundeliegende Frage eines möglicherweise geänderten Bedarfes muss bei ihrer Beantwortung verschiedene Faktoren berücksichtigen, z.B. Alter, Geschlecht, Grunderkrankung, Dauer der Einzelbehandlung, Dauer der Ersatztherapie, QD/QB oder Art der verwendeten Dialysemembran. Empfehlungen zur Supplementierung sollten auch der großen Heterogenität der Nierenpatienten Rechnung tragen und zwischen den verschiedenen Arten der Ersatztherapien differenzieren. Der Erweiterung der wissenschaftlichen Basis, die den Empfehlungen zur Thiaminzufuhr bei niereninsuffizienten Patienten zugrunde liegen sollte, diene ein weiteres Ziel dieser Arbeit, indem die Bioverfügbarkeit von Thiamin aus verschiedenen Supplementen bei Patienten mit CRF im konservativen Behandlungsstadium, bei Transplantatempfängern sowie HD-Patienten verglichen wurde. Im Einzelnen sollten dazu folgende Untersuchungen durchgeführt werden:

- Kalkulation der Thiaminzufuhr und Bestimmung des Thiaminstatus (α -ETK, Thiaminkonzentrationen in Plasma und Urin) in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Grad der Nierenfunktion.
- Überprüfung des Einflusses der Dialysebehandlung auf die Bioverfügbarkeit von Thiamin bei den HD-Patienten, sowohl während als auch nach einer Phase mit unterschiedlich hoher oraler Thiaminsupplementierung, unter Berücksichtigung verschiedener Cofaktoren (QB und QD, Molekülausschlussgrenze der verwendeten Dialysemembran, Behandlungshäufigkeit und -dauer) mit Hilfe geeigneter statistischer Verfahren.

Das dritte Ziel der Arbeit (Kap. 2, Abschnitt 6) war der Frage der Verfügbarkeit im Zentralnervensystem gewidmet, die bei der therapeutischen Anwendung des Thiamins von außerordentlichem Interesse ist, da Ausfallserscheinungen ganz wesentlich das Nervensystem betreffen. In Form einer Anwendungsbeobachtung nach § 67 (6) Arzneimittelgesetz (AMG) sollte dafür die relative Bioverfügbarkeit von Thiamin und das Verteilungsmuster der Thiaminphosphatester nach oraler Applikation von BTMP im Vergleich zu einer intramuskulären Injektion von T-HCl in der Cerebrospinalflüssigkeit (Liquor cerebrospinalis) unter den Bedingungen der routinemäßigen therapeutischen Anwendung bestimmt werden.

Kapitel 2

KLINISCH-EXPERIMENTELLER TEIL

4 Pharmakokinetik von Thiaminderivaten bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz

4.1 Material und Methoden

4.1.1 Studiendesign

Bei der klinischen Prüfung handelte es sich um eine Phase-IV-Studie, d.h. sie diente dem Nachweis der Wirksamkeit eines zugelassenen Pharmakons, um ggf. neue Indikationen zu entwickeln. Sie wurde als unizentrischer, einfachblinder, randomisierter Parallelgruppen-Vergleich angelegt, wobei die Randomisierung per Losverfahren in zwei Gruppen zu 10 Personen erfolgte. Patienten, die die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten und in die Teilnahme an der Studie einwilligten, erhielten in der Reihenfolge ihres Einschlusses eine Patientenummer und – am Tag der Durchführung der Studie - die zugehörige Prüfmedikation (Tab. 4-1).

Tabelle 4-1 Prüfmedikation

Verum A:	Verum B:
„milgamma® 100 Dragees“	„Neurotrat® S forte“
<i>1 Dragee enthält:</i> 100 mg <i>S</i> -Benzoylthiamin-O-monophosphat (Benfotiamin) 100 mg Pyridoxinhydrochlorid (übliche Handelsware)	<i>1 Filmtablette enthält:</i> 100 mg Thiaminnitrat 100 mg Pyridoxinhydrochlorid (übliche Handelsware)
Hersteller: Wörwag Pharma GmbH Ch.-B.: 950209/10	Hersteller: Knoll Deutschland Ch.-B.: 15812

Die Prüfmedikation wurde in neutrale Tütchen verpackt und gemäß AMG § 10, Abs. 1 und 10 beschriftet¹.

4.1.1.1 Patientenauswahl

In die Studie aufgenommen wurden zwanzig ESRD-Patienten (17 Männer, 3 Frauen) des Universitätsklinikums, Klinik für Innere Medizin IV und Patienten des Kuratoriums für Dialyse und Nierentransplantation e.V. (KfH), Zentrum Jena, bei denen der Beginn der dauerhaften Dialysepflicht

¹ Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (AMG) vom 17.8.1996 idF vom 19.10.1994 (BGBl. I Nr. 73).

zum Zeitpunkt des Studienbeginns mehr als sechs Monate zurücklag. Vorgegeben waren weiterhin ein BMI-Bereich von 22-30 kg/m², eine GFR (gemessen als Kreatinin-Clearance) < 10 ml/min und ein Serum-Kreatininspiegel von > 500 µmol/l (vgl. zusammenfassende Übersicht in Tab. 4-2, Einzelwerte: s. Anhang). Patienten, die folgende Bedingungen erfüllten, wurden nicht in die Studie aufgenommen: Verdacht auf Thiamin- bzw. Benfotiamin-Überempfindlichkeit, Schwangerschaft, Tumorerkrankungen, schwere Leberschäden, akute und chronische Magen-Darm-Veränderungen, akute Herzinsuffizienz, Blut- oder Plasmaspenden innerhalb von 4 Wochen vor bzw. parallel zur geplanten Studie, Hinweise auf Alkohol-, Medikamenten- oder Drogenabusus und Teilnahme an anderen Studien innerhalb der letzten zwei Monate vor Beginn der vorliegenden Studie.

Tabelle 4-2 Anthropometrische Charakteristika und klinische Daten der Studienteilnehmer (N=20)

Parameter	Median	Wertebereich	Normbereich
Alter (Jahre)	56,5	38,0-64,0	-
Body Mass Index (kg/m ²)	25,8	22,0-30,3	-
Dauer der ESRD (Mo.)	32,0	6,0-126,0	-
Dauer der Dialysetherapie (Mo.)	24,0	6,0-124,0	-
Serum-Harnstoff (mmol/l)	28,2	17,9-39,5	3,9-8,9
Serum-Kreatinin (µmol/l)	919,1	459,7-1116,6	<102 (♂), < 88 (♀)
Serum-Protein (g/l)	70,6	61,2-81,0	65-85
Serum-Albumin (g/l)	42,8	40,6-44,8	36-56
Protein-Ausscheidung (g/24h)	0,13	0,0-2,6	0,0
Hämatokrit	0,31	0,27-0,42	0,37-0,52
Hämoglobin (mmol/l)	6,8	5,9-8,8	7,4-11,2
RR _{systolisch} (mm Hg)	135,0	97,0-191,0	120-129
RR _{diastolisch} (mm Hg)	82,0	49,0-99,0	80-84

Die Begleitmedikation, die während der Studie verabreicht werden musste, wurde mit Dosierung und Dauer der Einnahme durch den Prüfarzt dokumentiert. Die notwendigen Behandlungsmaßnahmen aufgrund des Nierenleidens wurden beibehalten. Die Patienten unterbrachen während der Durchführung der Studie die Dialysebehandlung. Eine Substitution mit Vitaminpräparaten erfolgte nicht. Bei Vorbehandlung wurde eine 14tägige Wash-out-Phase eingehalten.

4.1.1.2 Aufklärung, Einwilligung und Votum der Ethikkommission

Vor Beginn der klinischen Prüfung wurden die Patienten gemäß §§ 40, 41 AMG über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung aufgeklärt. Inhalt der Aufklärung war weiterhin die Information des Patienten über die anonymisierte Weitergabe der erhobenen Daten an die Überwachungsbehörden, den Sponsor und Monitor unter Beachtung des Datenschutzes. Die Aufklärung durch den Prüfarzt erfolgte in schriftlicher und mündlicher Form im Rahmen eines Aufklärungsgesprächs, dessen Inhalt und Ablauf in der Patientenakte dokumentiert wurden. Die Empfehlungen des Weltärztebundes in Form der revidierten Deklaration von Helsinki und der Satzung der Landes-

ärztekammer, die „Grundsätze für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln“ und die in der EU-Note for Guidance („GCP Richtlinie“) festgelegten Verpflichtungen des Prüfarztes wurden beachtet. Die klinische Prüfung wurde von der unabhängigen Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität genehmigt.

4.1.1.3 Einzelverlauf der klinischen Studie

Zeitablauf

Zunächst erfolgte die Feststellung, ob der Patient für die Studie geeignet ist. Nach erfolgter Aufklärung und Einwilligung des Patienten wurde die Aufnahmeuntersuchung zusammen mit den nachstehenden Parametern einen Tag vor Durchführung der klinischen Prüfung im Patienten-Prüfbogen protokolliert. Dieser beinhaltete im Einzelnen: Patienteninitialen und Patientenummer, Patientendaten (Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht, BMI), renale Diagnose, Dauer der Niereninsuffizienz, Dauer der Dialysepflicht und Häufigkeit der Dialysebehandlungen pro Woche, Art des verwendeten Dialysators, Art und Dauer der Vitamin-Routinesupplementierung sowie Zeitpunkt deren Beendigung vor der Studie, Art und Häufigkeit der Alkoholaufnahme, Begleitmedikation, Erhebung der Nebendiagnose und Krankheitsanamnese, Blutdruck, klinische Labordaten (Scr, Harnstoff, Albumin, Hämatokrit etc.), Soll- und Ist-Entnahmezeiten der Blut- und Urinproben, Datum der Aufnahme- und Abschlussuntersuchung, zusammenfassender klinischer Befund im Ergebnis der Aufnahme- und Abschlussuntersuchung und Verweis auf (gesondert erfasste) unerwünschte Ereignisse während der Prüfung.

Tabelle 4-3 Zeitablauf der klinischen Prüfung

Zeit	Versuchsabschnitt
7.30 Uhr	Anreise der im KfH-Zentrum ambulant betreuten Patienten
7.45 Uhr	Technischer Start: Wiegen, Anlegen der Venenverweilkanüle, Kontrolle von Blutdruck und Puls, Vergabe der Harnsammelgefäße
7.58 – 8.00 Uhr	Abnahme der Nüchternblutprobe
8.00 Uhr	Orale Einmal-Applikation der Prüfmedikation (s. Tab. 4-1), Einnahme mit 150 ml Wasser
8.30 – 18.00 Uhr	Blutentnahme nach Zeitplan, Sammlung von Urin-Einzelmiktionen in Perioden, an Blut-Abnahmezeiten angepasst
18.15 Uhr	Ziehen der Venenverweilkanüle
7.30 Uhr	Vorbereiten der Patienten für die reguläre Dialysebehandlung, Abgabe des 24-h-Urins des Vortages

Die Durchführung der klinischen Prüfung erfolgte stationär. Dazu erschienen die Patienten am Morgen der klinischen Prüfung nüchtern nach nächtlicher Nahrungskarenz. Der Versuchsablauf war entsprechend Tab. 4-3 standardisiert. Fünf Tage nach Einnahme der Prüfmedikation erfolgte eine ambulante ärztliche Nachuntersuchung der Patienten. Diese beinhaltete eine körperliche Untersu-

chung (Blutdruck-, Pulsmessung) und ein klinisch-chemisches Laborscreening. Sämtliche Befunde wurden im Prüfbogen und in der Patientenakte dokumentiert.

Die Patienten konnten sich optional selbst verpflegen oder an der Mittagsverpflegung des Krankenhauses teilnehmen. Die tägliche Thiaminzufuhr mit der Nahrung wurde anhand von 7-Tage-Ernährungsprotokollen (einschließlich des Probeentnahmetages) überprüft. Die durchschnittliche Alkoholaufnahme wurde vom Prüfarzt erfragt und im Prüfbogen dokumentiert.

Blutprobengewinnung

Der zeitliche Ablauf der Blutprobenentnahme war folgendermaßen festgelegt: unmittelbar vor Applikation sowie 0,5/0,75/1,0/1,5/2/3/4/6/8/10 und 24 Stunden nach Applikation. Dazu wurden je Patient und Entnahmezeitpunkt 10 ml Vollblut mit Hilfe einer Venenverweilkanüle aus der *Vena mediana cubiti* in heparinisierte Monovetten entnommen. Zwischen den Blutentnahmen wurde die Venenverweilkanüle mit isotonischer Kochsalzlösung gespült, um einem Verschluss der Entnahmevorrichtung vorzubeugen. Die Proben wurden gemäß der Arbeitsvorschrift (s. Anhang) für die Lagerung bis zur Analyse vorbereitet. Zu den Zeitpunkten 8.00 Uhr (vor Applikation) und 18.00 Uhr wurden nach Abnahme des Plasmas die verbleibenden Erythrozyten zur Bestimmung der ETKA aufbereitet (s. Anhang). Die Abweichung der Ist-Entnahmezeiten von den Soll-Entnahmezeiten wurde im Prüfbogen auf eine Minute genau protokolliert.

Urinsammlung

Am Versuchstag wurde der 24-h-Urin in vier Intervallen gesammelt: von 8.00-13.00 Uhr, 13.00-18.00 Uhr, 18.00-22.00 Uhr und 22.00-8.00 Uhr des darauffolgenden Tages. Die Miktionszeiten wurden notiert und die Menge der einzelnen Fraktionen ausgewogen. Die Vorbereitung des Urins zur Lagerung bei -30°C bis zur Analyse erfolgte entsprechend der Vorschrift im Anhang.

4.1.2 Analytische Methoden

Entsprechend den in Kap. 1, Abschnitt 2.4 dargestellten Überlegungen wurde für die Konzentrationsmessungen des Thiamins und seiner Phosphatester in Vollblut, Plasma und Urin die HPLC-Methode mit Vorsäulenderivatisierung zu Thiochrom/Thiochromphosphorsäureestern von Brunnekreeft et al. (1989) und Gerrits et al. (1997) übernommen und auf den Routineeinsatz für die pharmakokinetische Fragestellung vorbereitet und validiert. Die im Folgenden beschriebene HPLC-Methode bildete die Grundlage sowohl der in diesem Abschnitt dargestellten Untersuchungen als auch für die Untersuchungen in Abschnitt 6. Die zusätzlich durchgeführte Überprüfung der physiologischen Verfügbarkeit der applizierten Thiaminderivate im Gewebe basierte auf der Messung der erythrozytären Transketolaseaktivität mittels gekoppeltem optischen Test (Vo-Khactu et al.,

1974). Auch diese Methode wurde auf ihre Eignung für die spezifischen Ziele dieses Abschnitts überprüft. Die übrigen klinisch-chemischen Laborparameter, auf die in der vorliegenden Untersuchung Bezug genommen wird, wurden im Rahmen der klinischen Routinediagnostik gewonnen.

4.1.2.1 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Die Entscheidung für den Gebrauch der HPLC-Methode waren: dokumentierte einfache Handhabbarkeit, hohe Robustheit und Wirtschaftlichkeit in Bezug auf die vorhandenen Ressourcen. Hinsichtlich der Erfordernisse für die vorliegende Arbeit bildete die ausführliche Dokumentation der chromatographischen Bedingungen und der einzelnen Validierungsschritte in den genannten Publikationen ein weiteres wichtiges Entscheidungskriterium. Die Dokumentation beinhaltete im Einzelnen: Stabilität des Fluoreszenzsignals, Lebensdauer der Trennsäule, Dauer einer Einzelanalyse, Reproduzierbarkeit und Präzision der Ergebnisse sowie Chromatogramme zur Qualität der Trennung der einzelnen Thiochromphosphorsäureester. In der Publikation von Gerrits et al. (1997) wurde zudem die Lagerstabilität der Thiaminphosphorsäureester ausführlich beschrieben. Dieses Kriterium war in den dargestellten Untersuchungen ebenfalls von Bedeutung (siehe unten).

Tabelle 4-4 Chromatographische Bedingungen für die Bestimmung von Thiamin, TMP, TDP und TTP

Stationäre Phase	Vorsäule: K1 (10 × 4,0 mm), Säulenmaterial: Prontosil 120-3-C18 AQ (Partikelgröße: 3 µm) Hauptsäule: SC-04-100 (100 × 4,0 mm), Säulenmaterial: Prontosil 120-3-C18 AQ (Partikelgröße: 3 µm)
Mobile Phase	Lösungsmittel A: Methanol/25 mM K ₂ HPO ₄ (12/88, v/v), pH 7,0 Lösungsmittel B: Methanol/Wasser (90/10, v/v)
Temperatur	23 ± 2,4°C
Flussrate	1 ml·min ⁻¹ ; Gradient (s. Tab. 4-5)
Trennung von	TTP, TDP, TMP und Thiamin nach prächromatographischer Derivatisierung
Analysendauer	18 min [†]
Detektion	Fluorimetrisch: Ex. 375/Em. 435 nm; Volumen der Durchflusszelle: 12 µl
Injektionsvolumen	50 µl

[†] einschließlich Stabilisierungszeit der Säule

Durchgeführte Modifikationen. Ein hoher Salzgehalt des Phosphatpuffers kann zu einer signifikanten Reduktion der Leistungsfähigkeit der Trennsäule führen, insbesondere dann, wenn die Säule nicht gründlich gespült wird. Deswegen wurde die ursprüngliche Pufferkonzentration von 140 mM auf 25 mM reduziert (Tab. 4-4). Der von Brunnekreeft et al. (1989) verwendete steile Lösungsmittelgradient verursachte einen „Gradientenpeak“, der durch zeitliche Variation der Fließmittelkomponenten fast vollständig eliminiert werden konnte. Die besten Ergebnisse wurden mit dem in Tab. 4-5

dargestellten Gradientenprofil erzielt. Hierbei konnte eine Basislinientrennung von TTP, TDP und TMP, sowie eine ausreichend schnelle Elution aller vier Substanzen erreicht werden. Die mittleren Retentionszeiten (Mittelwert \pm SD, N = 10) von Thiamin, TMP, TDP und TTP lauteten in der angegebenen Reihenfolge: $13,4 \pm 0,3$ min, $5,4 \pm 0,14$ min, $3,2 \pm 0,12$ min und $2,4 \pm 0,1$ min. Die Re-äquilibrierungszeit, die sich durch die Differenz von Anfangs- und Endkonzentration des Eluenten ergab, betrug 5 min. Der Phosphatpuffer wurde tropfenweise mit konzentrierter Phosphorsäure auf pH 7,0 eingestellt. Sämtliche Lösungsmittel wurden vor Gebrauch membranfiltriert ($0,45 \mu\text{m}$) und 5 min unter Vakuum entgast. Lösungsmittel B enthielt 10% Wasser, um das Auskristallisieren von Puffersalzen im HPLC-System beim Aufeinandertreffen der beiden Fließmittel in der Pumpenmischkammer zu verhindern.

Tabelle 4-5 Gradienten-Elutionsprofil zur Trennung von Thiamin, TMP, TDP und TTP

Zeit (min)	Flussrate (ml/min)	Lösungsmittel A (%)	Lösungsmittel B (%)
0	1,0	92	8
13	1,0	81	19

Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung wurde im Vergleich zur Originalvorschrift (Brunnekreeft et al., 1989) lediglich dahingehend modifiziert, dass statt des Probenvolumens von 1 ml nur 0,3 ml eingesetzt wurden, welche mit isotonischer Kochsalzlösung auf 1 ml Probenendvolumen aufgefüllt wurden (s. Abb. 4-1). Nach Tallaksen et al. (1997) kann die Probenaufbereitung von Liquor (vgl. Abschnitt 6) analog zu den Blutproben erfolgen. In den meisten Fällen war eine Präzipitation des Proteins im Liquor nicht nötig, jedoch beeinflusste die dafür verwendete Perchlorsäure die Analyten nicht. Die eingefrorenen Proben wurden nach dem Auftauen am Analysentag entsprechend dem Arbeitsdiagramm in Abb. 4-1 mit isotonischer Kochsalzlösung verdünnt. Die Präzipitation des Proteins erfolgte durch Zusatz von Perchlorsäure (PCA-1). Die Arbeitsstandards und die Urinproben wurden analog den Blutproben aufbereitet, wobei jedoch PCA-2 (Perchlorsäure, verdünnt mit 0,25 M NaOH) zugesetzt wurde. Die bei Brunnekreeft et al. (1989) beschriebene Filtration des Zentrifugen-Überstandes durch einen $0,2 \mu\text{m}$ -Membranfilter zur weiteren Probenaufbereitung wurde nicht durchgeführt. Bei den Vorversuchen konnte kein Effekt dieses Schrittes auf den chromatographischen Trennprozess oder die Haltbarkeit der Säule festgestellt werden.

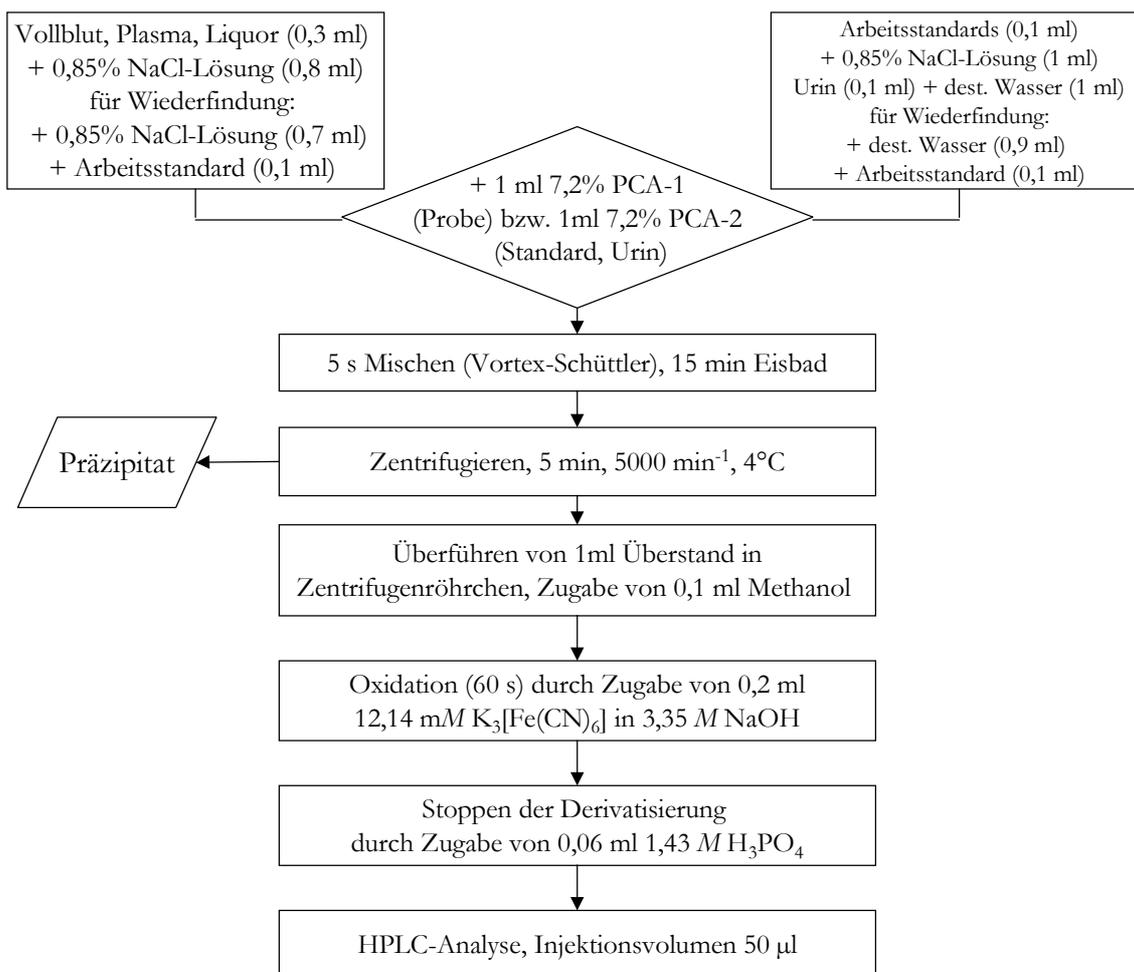


Abb. 4-1 Arbeitsdiagramm für die Bestimmung von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern mittels HPLC in biologischen Matrices

Um konstante Reaktionsbedingungen zu gewährleisten, erfolgte die Derivatisierung nachdem die Proben Raumtemperatur erreichten. Die Zugabe von Methanol diente der Erhöhung des Fluoreszenzsignals (Brunnekreeft et al., 1989). Das Oxidationsreagenz bestand aus Kaliumhexacyanoferrat(III), das jeweils frisch am Analysentag in 3,35 M NaOH gelöst wurde. Die Derivatisierung wurde durch Zugabe von H₃PO₄ nach 1 min abgestoppt, wodurch der pH-Wert der Proben auf ca. 6,9 abgesenkt wurde. Durch Verwendung von PCA-2 betrug auch der pH-Wert der derivatisierten Arbeitsstandards und des Urins ca. 7,0. Ein Aliquot (1 ml) der derivatisierten Probe, die lichtgeschützt mindestens 24 Stunden haltbar ist, wurde in Autosampler-Vials überführt und analysiert.

Stammlösungen von TMP und Thiamin wurden in Konzentrationen von 3 mM mit 0,1 N HCl hergestellt und bei 4°C gelagert (Haltbarkeit = 1 Mo.). Die TDP-Stammlösung (3 mM) musste aufgrund der natürlich ablaufenden Dephosphorylierung vor jedem Gebrauch frisch hergestellt werden. Die

TTP-Stammlösung wurde nur zu Validierungszwecken (s.u.) hergestellt. Die Arbeitsstandards (wässrige Kalibrierlösungen) wurden vor Gebrauch aus den entsprechenden Stammlösungen (jeweils 3 mM) durch 1 : 2000-Verdünnung mit destilliertem Wasser hergestellt. Die Analyse der Proben erfolgte jeweils mindestens als Doppelbestimmung. Die einzelnen Schritte der Probenvorbereitung erfolgten bei gedämpfter Beleuchtung, um negative Einflüsse energiereichen Lichtes zu minimieren.

Einfluss der Temperatur auf die Stabilität der Proben. Aus praktischen und organisatorischen Gründen konnten die Proben nicht sofort nach Entnahme analysiert werden, wie bei Ziems (1997) beschrieben. Sie wurden statt dessen am Studienort sofort nach Entnahme gemäß der Arbeitsvorschrift (Anhang) aufbereitet und bei -30°C (Blut/Plasma/Urin) bzw. -80°C (Erythrozyten) eingefroren. Jeweils nach dem letzten Abnahmetermin (s. Tab. 4-3) wurden alle Proben eines Patienten auf Trockeneis ins Institut für Ernährungswissenschaften gebracht und bis zur Analyse bei den entsprechenden Temperaturen gelagert. Zu beachten war hierbei die begrenzte Haltbarkeit der Proben aufgrund der unterschiedlichen Stabilität der Thiaminphosphorsäureester (Tab. 4-6).

Tabelle 4-6 Stabilität von TDP im Vollblut und Standardlösungen bei verschiedenen Temperaturen[†]

Matrix	Temperatur			
	-20°C	4°C	20°C	37°C
Heparin- oder EDTA-Blut	> 6 Mo.	< 3 Tage	< 4 h	-
Standard in 0,1 N HCl	< 2 Mo.	-	-	-

[†] nach Gerrits et al., 1997., - = nicht bestimmt

Die abgeleitete Entscheidungsregel bestand demzufolge darin, die Proben „batch-weise“, d.h. innerhalb der durch die Zeitverzögerung bei der Patientenrekrutierung verursachten Zeiträume zu analysieren. Dadurch betrug die Lagerdauer der Blutproben höchstens 1 Monat.

Validierung der HPLC-Methode

Die Validierung analytischer Methoden ist wichtig für die Gewinnung von Daten zur Bioverfügbarkeit, Bioäquivalenz und für pharmakokinetische Studien allgemein (Bressolle et al., 1996). Sie beinhaltet den Nachweis und die Dokumentation über die Zuverlässigkeit einer Methode und ist somit notwendige qualitätssichernde Maßnahme in der Routineanalytik (Ziems, 1997). Im Folgenden werden die verwendeten Validierungselemente beschrieben und die dabei ermittelten Daten dokumentiert.

Grundkalibrierung und Regressionsanalyse

Die Integration der Chromatogramme erfolgte über die Peakfläche, die Identifizierung der Thiochrom-/Thiochomphosphat-Peaks aufgrund der jeweiligen Retentionszeiten. Bei der quantitativen Auswertung der Peakfläche wurde die Methode des externen Standards eingesetzt (Gl. 4.1).

$$X = \frac{\text{Peakfläche}_X \cdot Y}{\text{Peakfläche}_Y} \quad (4.1)$$

Die Quantifizierung erfolgt hierbei durch den Vergleich des Detektorsignals der unbekannt Probe (X) mit einer vorher erstellten Kalibriergeraden bekannter Standardkonzentrationen (Y).

Jeweils zu Beginn eines Analysentages wurde die analytische Säule mit mindestens zwei Injektionen von Standardverdünnungen belegt, um das System zu äquilibrieren. Zur Kalibrierung wurde eine Mehrpunkt-Eichung mit drei Standardkonzentrationen durchgeführt, wobei die gewählten Konzentrationen mit 15, 150 und 300 nM im analytisch relevanten Bereich lagen. Die Kalibriergerade wurde durch lineare Regression ermittelt. Während des Analysentages wurden neben den eigentlichen Proben wässrige Standardlösungen von 150 nM mitgeführt, um eventuelle Analysenfehler frühzeitig erkennen zu können. Die Verdünnungen der Thiamin-/Thiaminphosphatstandards wurden einer den Proben identischen Aufbereitung unterzogen, um Verdünnungseffekte und Einflüsse von Probenstandzeiten auszuschließen (s. Abb. 4-1).

Der Konzentrationsbereich, bei dem das Messsignal direkt proportional zur Analytenkonzentration in der Probe ist, wird als linearer Bereich bezeichnet. Dabei wird das Signal S gegen die Konzentration C aufgetragen und die ermittelte Steigung dS/dC als Maß für die Empfindlichkeit der Methode gewertet (Kromidas et al., 1995). Zur Bestimmung der Linearität wurden Standardgemische der Thiaminphosphatester in verschiedenen Konzentrationen gemessen. Es wurden je 6 Bestimmungen der Konzentrationen 7,5, 15, 75, 150, 300, 600 und 1200 nM durchgeführt und eine Regressionsanalyse angeschlossen (Kalibrierfunktion ersten Grades). Die Methode ist bis mindestens 1200 nM linear (Abb. 4-2).

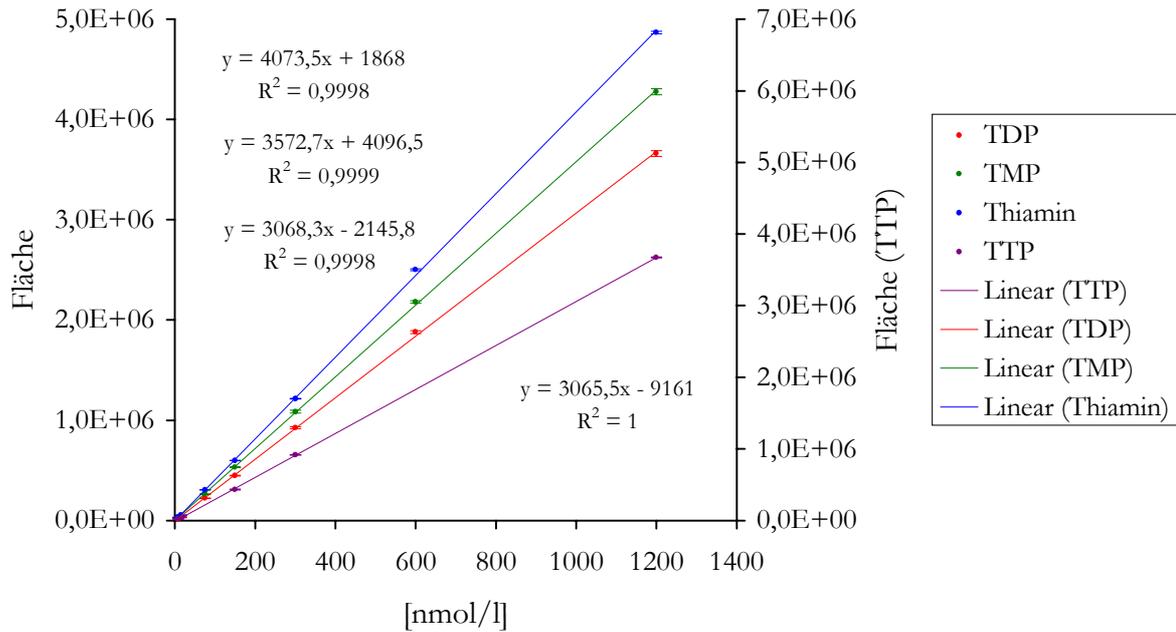


Abb. 4-2 Regressionsgerade des Thiamins und seiner Phosphorsäureester

Präzision

Für ein zuverlässiges Analyseverfahren ist eine gleichbleibende Präzision und Richtigkeit der Analyseergebnisse über einen längeren Zeitraum eine Grundvoraussetzung (Kromidas et al., 1995). Im Gegensatz zur Kalibrierung, die unter Wiederholbedingungen innerhalb eines kurzen Zeitraumes stattfindet, kann die Analysenqualität über einen längeren Zeitraum durch verschiedene Faktoren (z.B. Umwelteinflüsse, Instabilität von Analysenparametern, Alterungseffekte, Verschmutzung) zu einer deutlich höheren Unpräzision in den Analyseergebnissen führen. In der Vorbereitungsphase der Routineanalytik sollten diese Effekte und Einflüsse erkannt und wenn möglich beseitigt werden. Deshalb wurden in jeder Analysenserie Kontrollproben analysiert.

A) Messschwankungen in der Serie

Zur Ermittlung der Messschwankungen innerhalb einer Serie wurde eine gemischte Blutprobe (Vollblut und Plasma) an einem Tag zehnmal analysiert und die Schwankungen der Messwerte als Variationskoeffizient nach Gl. (4.4) berechnet.

$$\text{Mittelwert } (x_m) = \frac{\sum x_i}{N} \quad (4.2)$$

$$\text{Standardabweichung } (s) = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x_m)^2}{N - 1}} \quad (4.3)$$

$$\text{Variationskoeffizient (\%)} = \frac{s}{x_m} \cdot 100\% \quad (4.4)$$

Die Variationskoeffizienten für Thiamin, TMP und TDP betragen 5,2, 3,6 bzw. 3,7%.

B) Variation von Tag zu Tag

An zehn verschiedenen Tagen wurde eine Standardlösung von Thiamin, TMP und TDP in jeweils unterschiedlichen Konzentrationen (7,5/15/75/150 nM) analysiert (Tab. 4-7)².

Tabelle 4-7 Ergebnisse der Methodvalidierung: Variation der Peakfläche einer Standardlösung von Tag zu Tag[†]

Konz. (nM)	TDP			TMP			Thiamin		
7,5	23343	± 2094	(8,9%)	29906	± 1333	(4,5%)	35575	± 2257	(6,3%)
15	43599	± 4866	(11,1%)	54768	± 2961	(5,4%)	67432	± 3140	(4,7%)
75	244624	± 10317	(4,2%)	292739	± 8971	(3,1%)	351424	± 12938	(3,7%)
150	486362	± 15924	(3,2%)	563119	± 25916	(4,4%)	651099	± 30980	(4,8%)

[†] N=10, Mittelwert ± SD (Variationskoeffizient)

Außerdem wurde im Verlaufe von zwei Monaten an 11 verschiedenen Tagen der Gehalt an Thiamin, TMP und TDP in einer Vollblutprobe eines gesunden männlichen Probanden analysiert (Tab. 4-8).

Tabelle 4-8 Ergebnisse der Methodvalidierung: Variation der Thiaminkonzentration in einer Vollblutprobe von Tag zu Tag[†]

Verbindung	Konzentration (ng/ml)		Variationskoeffizient (%)
TTP	-		-
TDP	62,0	± 4,70	7,6
TMP	1,77	± 0,52	29,7
Thiamin	2,01	± 0,24	12,1

[†] N=11, Mittelwert ± SD, - = Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze (< 1,4 ng/ml)

Richtigkeit

Die Richtigkeit gilt als Maß für die Abweichung des Messwerts vom richtigen („wahren“) Wert aufgrund systematischer Fehler. Eine Grundvoraussetzung für die Richtigkeit ist deshalb das Fehlen von systematischen Fehlern. Als weitere Voraussetzungen gelten die Selektivität der Methode und eine Wiederfindungsrate (WFR), die nach jedem Probenvorbereitungsschritt 100% beträgt oder konstant und rechnerisch korrigierbar ist. Mittels der Wiederfindungsrate (WFR) als Beurteilungskriterium für das jeweilige Analysenverfahren bzw. einen einzelnen Verfahrensschritt wird über-

² Die Variabilität der Peakflächen für TTP wurde nicht überprüft, da es in über 90% der Proben nicht nachzuweisen war.

prüft, ob bei der Probenaufbereitung (wie z.B. Extraktion, Derivatisierung, Injektion) möglicherweise ein Teil der Substanz verloren geht. Für die WFR gilt allgemein Gl. (4.5).

$$WFR = \frac{\text{gemessene Konzentration}}{\text{dotierte Konzentration}} \cdot 100\% \quad (4.5)$$

Typische Probenmatrizes (Tab. 4-9) wurden zur Überprüfung möglicher negativer Matrixeinflüsse mit Standardlösungen (mittlerer Konzentrationsbereich) aufgestockt, aufgearbeitet, analysiert und nach Gl. (4.5) die jeweilige WFR berechnet.

Tabelle 4-9 Ergebnisse der Methodvalidierung: Wiederfindungsrate unter dem Einfluss verschiedener Probenmatrizes

Verbindung	N	Wiederfindung (%)	Variationskoeffizient (%)
<i>Matrix: Vollblut</i>			
TTP	15	86,1 [†]	14,0
TDP	15	89,6 [†]	4,2
TMP	10	106,5 [‡]	3,8
Thiamin	10	97,6 [‡]	5,5
<i>Matrix: Urin</i>			
TMP	10	100,4 [¶]	2,1
Thiamin	10	100,4 [¶]	1,2
<i>Matrix: Liquor</i>			
TDP	4	96,8 [¶]	3,9
TMP	4	96,8 [¶]	5,4
Thiamin	4	99,2 [¶]	5,4

[†] zugesetzte Standardkonzentration: 15-300 nM, [‡] zugesetzte Standardkonzentration: 75 nM, [¶] zugesetzte Standardkonzentration: 15 und 150 nM

Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Die Nachweisgrenze ist die kleinste Konzentration (Menge) des Analyten in der Probe, die qualitativ noch erfasst werden kann (Ja/Nein-Entscheidung) (Kromidas et al., 1995). In der chromatographischen Praxis gilt zumeist das zwei- bis dreifache Rauschen als Nachweisgrenze. Wässrige Standardlösungen wurden soweit verdünnt, bis das Messsignal des Thiamins/Thiaminphosphorsäureester die Höhe des dreifachen Rauschsignals überschritt. Die Nachweisgrenze wurde aus der Kalibrierlösung mit der geringsten Konzentration der für die Festlegung der Bestimmungsgrenze benutzten Verdünnungsreihe abgeleitet. Die Nachweisgrenze betrug für alle vier Analyten 0,6 nmol/l (entsprechend 0,16 ng/ml für Thiamin, 0,21 ng/ml für TMP, 0,26 ng/ml für TDP und 0,3 ng/ml für TTP). Umgerechnet auf das Probeninjektionsvolumen von 50 µl ergibt sich eine absolute Nachweisgrenze von 30 fmol (entsprechend 8,0 fg Thiamin, 10,4 fg TMP, 12,8 fg TDP und 15,1 fg TTP).

Die Bestimmungsgrenze wurde nach dem von Eurachem/D vorgeschlagenen Verfahren (Abb. 4-3) bestimmt. Hierbei wurde mit einer Verdünnungsreihe aus Kalibrierlösungen die kleinste Konzentration ermittelt, für die der Variationskoeffizient noch tolerierbar war. Für pharmakokinetische Studien sind bis zu 20% tolerierbar (Bressolle et al., 1996). Für jede Verdünnungsstufe wurden sechs Wiederholbestimmungen durchgeführt.

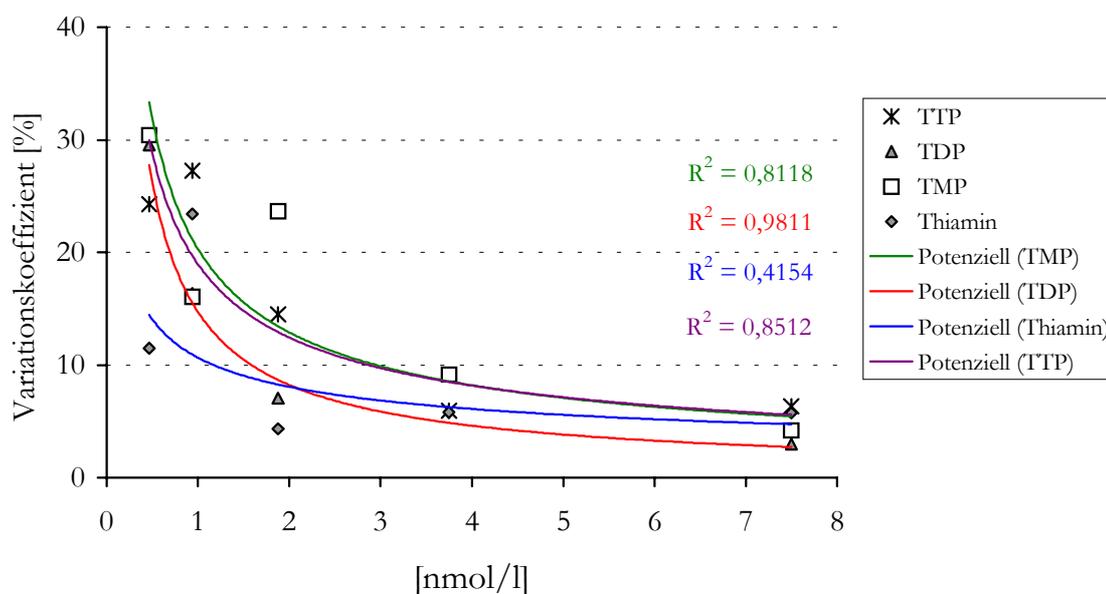


Abb. 4-3 Ermittlung der Bestimmungsgrenze nach den Kriterien des Arbeitskreis Eurachem/D (Kromidas et al., 1995)

Die Bestimmungsgrenze betrug bei 10% Variation 1,15 nmol/l (0,31 ng/ml) für Thiamin, 1,6 nmol/l (0,68 ng/ml) für TDP, 2,8 nmol/l (0,97 ng/ml) für TMP und 2,8 nmol/l (1,4 ng/ml) für TTP.

4.1.2.2 Aktivität der erythrozytären Transketolase (ETKA/ α -ETK)

Messprinzip

Das Enzym Transketolase (EC 2.2.1.1) katalysiert die Reaktion zwischen Xylulose-5-phosphat und Ribose-5-phosphat, die zu Sedoheptulose-7-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat umgesetzt werden sowie die Reaktion von Xylulose-5-phosphat und Erythrose-4-phosphat zu Fruktose-6-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat. Die ETKA wird aus der Geschwindigkeit der Zunahme von Glycerinaldehyd-3-phosphat bestimmt, die durch eine gekoppelte NADH-benötigende Indikatorreaktion ermittelt wird. Das entstehende Glycerinaldehyd-3-phosphat wird nach Zugabe von Triosephosphatisomerase zu Dihydroxyacetonphosphat und weiterhin mit Hilfe von Glycerinphosphatdehydrogenase und unter Oxidation von NADH zu Glycerin-1-phosphat reduziert. Der

Verbrauch von NADH wird photometrisch erfasst. Diese Aktivitätsmessung wird sowohl ohne als auch mit Zusatz von TDP durchgeführt und ergibt das *in-vitro*-Stimulations-Verhältnis, ausgedrückt als α -ETK (s. Arbeitsvorschrift, Anhang).

Validierung der Methode

Die Ermittlung der Präzision basierte auf den Gl. (4.2-4.4). Zusätzlich wurde der Einfluss der Lagerdauer und Lagertemperatur auf die ETKA mit Hilfe des Friedman-Tests überprüft (Sachs, 1997).

A) Messschwankungen in der Serie

An einem Analysentag wurde in einer Charge einer Erythrozytenprobe die ETKA eines gesunden männlichen Probanden zehnmal gemessen (Tab. 4-10).

Tabelle 4-10 Variation der ETKA innerhalb einer Messserie[‡]

Parameter	Mittelwert	\pm SD ($\mu\text{kat/l}^\dagger$)	Variationskoeffizient (%)
ETKA ₀	4,01	\pm 0,27	6,7
ETKA ₊	4,35	\pm 0,20	4,7
α -ETK	1,086	\pm 0,045	4,1

[‡] N=10 (Doppelbestimmungen), [†] Zellsuspension

B) Variation von Tag zu Tag

Über den Zeitrahmen der pharmakokinetischen Studie verteilt, wurde in einer Charge einer Erythrozytenprobe eines gesunden männlichen Probanden achtmal die ETKA bestimmt (Tab. 4-11).

Tabelle 4-11 Variation der ETKA von Tag zu Tag[‡]

Parameter	Mittelwert	\pm SD ($\mu\text{kat/l}^\dagger$)	Variationskoeffizient (%)
ETKA ₀	4,21	\pm 0,15	3,7
ETKA ₊	4,71	\pm 0,46	9,8
α -ETK	1,092	\pm 0,061	5,6

[‡] N=8 (Doppelbestimmungen), [†] Zellsuspension

Diese Bestimmungen dienten gleichzeitig der Einschätzung der Stabilität bei -80°C (Abb. 4-4). Die unstimulierte ETKA (ETKA₀) und der Aktivitätskoeffizient (α -ETK) blieben über einen Zeitraum von 11 Monaten unverändert ($\chi^2 = 6,7$; $p = 0,54$ bzw. $\chi^2 = 10,0$; $p = 0,15$). Die stimulierte Aktivität (ETKA₊) zeigte signifikante Abweichungen ($\chi^2 = 13,0$; $p = 0,005$).

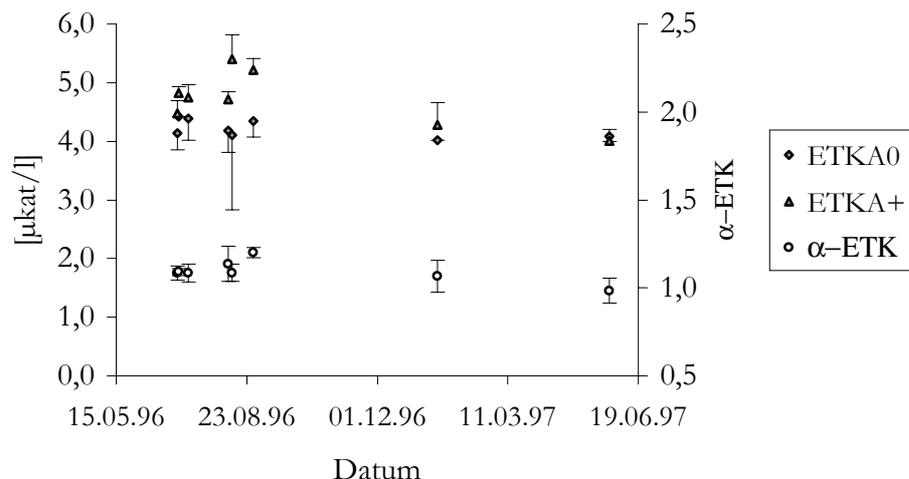


Abb. 4-4 Variation der ETKA in einer Charge von Tag zu Tag (Lagerung bei -80°C)

C) Lagerstabilität

Die Enzymstabilität während der Lagerung wurde bei verschiedenen Temperaturen geprüft (Abb. 4-5).

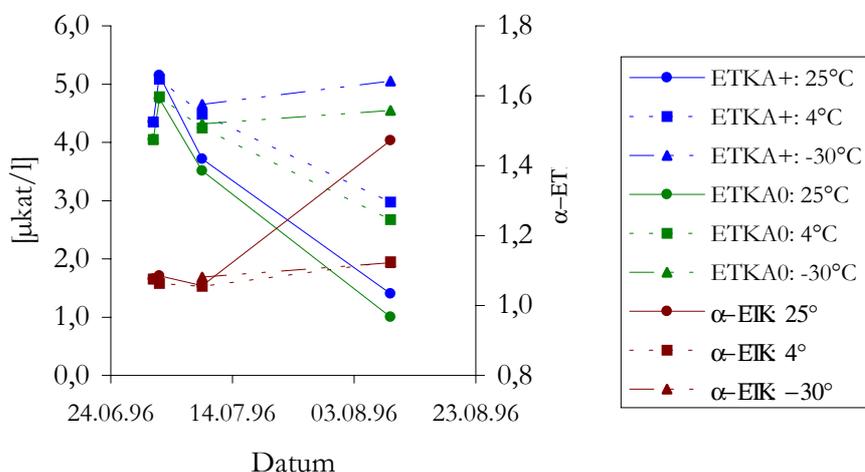


Abb. 4-5 Einfluss der Lagertemperatur auf die ETKA

Dazu wurden drei Chargen eines Erythrozytensediments eines gesunden männlichen Probanden bei 25°C , 4°C und -30°C gelagert und die ETKA im Verlaufe eines Monats an vier unterschiedlichen Tagen je viermal gemessen. Innerhalb von 24 Stunden kam es bei den Proben, die bei 25°C aufbewahrt wurden, zu einer deutlichen Zunahme sowohl der unstimulierten (ETKA₀) als auch der sti-

mulierten (ETKA₊) Werte, die dann innerhalb einer Woche und darüber hinaus rasch abnahmen ($\chi^2 = 12,0$; $p < 0,001$). Die starke Vergrößerung des Aktivierungskoeffizienten konnte statistisch nicht gesichert werden ($\chi^2 = 5,8$; $p = 0,126$). Dies galt auch für die Charge, die bei 4°C aufbewahrt wurde: die stimulierte und unstimulierte Aktivität waren jeweils innerhalb eines Monats deutlich vermindert ($\chi^2 = 11,1$; $p = 0,001$), während α -ETK unverändert blieb ($\chi^2 = 0,9$; $p = 0,9$). Die bei -30°C gelagerten Proben waren innerhalb eines Monats stabil ($\chi^2 = 3,0$; $p = 0,24$ für ETKA₀/ $\chi^2 = 4,5$; $p = 0,125$ für ETKA₊). Der Aktivierungskoeffizient war ebenfalls nicht verändert ($\chi^2 = 0,5$; $p = 0,93$). Damit keine langen Lagerzeiten während der Patientenrekrutierung entstanden, wurde das Erythrozytensediment des jeweiligen Patienten sofort nach seiner Aufbereitung bei -80°C eingefroren und innerhalb von 2 Tagen gemessen.

4.1.3 Pharmakokinetische Methoden

Grundsätzlich erfolgte die pharmakokinetische Auswertung sowohl mit Hilfe der *kompartment-unabhängigen* als auch der *kompartmentgebundenen* Betrachtungsweise, die im Folgenden erläutert werden.

4.1.3.1 Kompartiment-unabhängige Analyse

Die pharmakokinetischen Parameter, die zur Quantifizierung der Bioverfügbarkeit der verabreichten Substanzen dienen, wurden aus den individuellen Konzentrations-Zeit-Verläufen der Patienten im Blut und Plasma berechnet. Hierbei gilt als Hauptzielkriterium die AUC des Gesamtthiamins (Pietrzik und Remer, 1989). Sie wurde aus den Flächeninhalten des Trapezes unter dem Polygonzug, der die Konzentrationszeitpunkte verbindet, berechnet (Anonym, 1987). Dabei wurde für die Berechnung der Gesamtthiaminkonzentration der molekulare Anteil des Thiamins in den gemessenen Thiaminphosphorsäureestern aufsummiert. Für die Berechnung der AUC wurden die individuellen Nüchternkonzentrationen, die vor Applikation der Prüfsubstanzen gemessen wurden, von den postapplikativ gemessenen Konzentrationen subtrahiert. Weiterhin wurde zur Bewertung der Bioverfügbarkeit das Ausmaß des absoluten maximalen Wirkstoffkonzentrationsanstiegs (C_{\max}) und die Zeitdauer bis zum Erreichen des Konzentrationsmaximums (t_{\max}) erfasst. Zusätzlich wurde das Verhältnis von C_{\max} zum jeweiligen Basiswert berechnet. Dadurch konnte der Konzentrationsanstieg unabhängig von der interindividuellen Streuung der Nüchternwerte betrachtet werden (Zempleni et al., 1996). Zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit diente weiterhin der Konzentrations-Zeit-Verlauf der erythrozytären TDP-Konzentration und die damit assoziierte Änderung funktionseller Thiamin-Statusparameter, d.h. die kurzfristige Aktivierbarkeit der ETKA bzw. α -ETK. Die Berechnung der Gesamtthiamin-Clearance beruhte auf den gängigen Clearance-Konzepten, die im Folgenden kurz erläutert werden. Die intrinsische Clearance widerspiegelt die maximale metaboli-

sche Kapazität eines „klärenden“ Organs (Touchette und Slaughter, 1991). Wenn ein Arzneistoff nach oraler Applikation vollständig absorbiert wird, kann die intrinsische Clearance aus der oralen Clearance (CL_{oral}) geschätzt werden (Gl. 4.6) (Touchette und Slaughter, 1991).

$$CL_{\text{oral}} = \frac{D_{\text{oral}}}{AUC_{\text{oral}}} \quad (4.6)$$

Hierbei bezeichnen D_{oral} die Dosis der oral verabreichten Substanz und AUC_{oral} die im Beobachtungszeitraum gemessene AUC (0-24 h). Wenn die Bioverfügbarkeit (F) bekannt ist, gestattet Gl. 4.6 auch eine Aussage zur systemischen Clearance, die der Summe aus der hepatischen Clearance, der renalen Clearance und allen anderen Clearance-Prozessen, die im Körper stattfinden können, entspricht (Touchette und Slaughter, 1991). Bei unbekanntem F ist die orale Clearance ein Näherungswert der systemischen Clearance.

Die renale Clearance (CL_{R}) ist der Proportionalitätsfaktor zwischen der Urinkonzentration pro Zeiteinheit und der Plasmakonzentration (Gl. 4.7).

$$CL_{\text{R}} = \frac{U \cdot V}{C_{\text{P}}} \quad (4.7)$$

U steht für die Gesamthiaminkonzentration im Urin, V für das Urinzeitvolumen und C_{P} für die Gesamthiaminkonzentration im Plasma. Die Integration von Gl. 4.7 ergibt Gl. 4.8.

$$CL_{\text{R}} = \frac{A_{\text{e}}}{AUC_{0-24}} \quad (4.8)$$

A_{e} bezeichnet hierin die Menge des mit dem 24-h-Urin ausgeschiedenen Gesamthiamins, während sich die AUC auf den von 0 bis 24 h umfassenden Messzeitraum bezieht. Die CL_{R} schließt nicht den Bioverfügbarkeitsfaktor F nach oraler Applikation ein. In der vorliegenden Untersuchung wurde jeweils CL_{R} und CL_{oral} nach Gl. 4.8 bzw. 4.6 berechnet und auf eine Körperoberfläche von 1,73 m² standardisiert (Anonym, 1977). Dem Versuchsdesign ist zu entnehmen, dass der Sammlung des 24-h-Urins am Belastungstag keine Vorsammelperiode zur Ermittlung der individuellen basalen Thiaminausscheidung vorausging. Die Urinmesswerte gingen ohne Nüchternwert-Korrektur in die Auswertung ein. Alle Berechnungen erfolgten mit dem Softwarepaket TOPFIT (Thomae Optimized Pharmacokinetic Fitting Program), Version 2.0 (Heinzel et al., 1993).

4.1.3.2 *Kompartimentgebundene Analyse*

Ziel der Analyse eines komplexen biologischen Systems ist die mathematische Beschreibung des Verhaltens messbarer Ausgangssignale nach Störung durch einfache Eingangssignale (Weber, 1991). Eine pharmakokinetische Untersuchung kann dieses Ziel durch Messung der Konzentrations-Zeit-Funktion nach intravenöser oder peroraler Applikation erreichen. Nach Formulierung eines geeigneten biokinetischen Modells wurden die Konzentrations-Zeit-Verläufe von TMP im Blut, TDP in den Erythrozyten und von Gesamtthiamin im Plasma angepasst und die Modellparameter berechnet. Hierbei gingen die Konzentrationen der Metaboliten TMP und TDP auf Basis ihres molekularen Thiaminanteils in die Modellrechnungen ein. Alle verwendeten Symbole und ihre Bedeutung sind in Tab. 4-12 erklärt.

Tabelle 4-12 Pharmakokinetische Parameter und ihre Bedeutung (nach Heinzl et al., 1993)

Parameter	Abkürzung [Einheit]	Bedeutung
Mean residence time	MRT [h]	Mittlere Verweildauer des intakten Wirkstoffmoleküls bei seiner Disposition
Verteilungsvolumen	V_i [l]	Scheinbares Verteilungsvolumen der Dispositionskompartimente, die per Massentransfer (Hin- und Rückfluss) mit dem zentralen Kompartiment ($V_i = V_c$), d.h. Plasma, verbunden sind
Area under the curve	AUC_{model} [ng·h/ml]	Integral der analytischen Funktion $c(t)$, die den Konzentrations-Zeit-Verlauf von $t = 0$ bis ∞ im Modell beschreibt
Dispositionskonstanten	b_i [h^{-1}]	mittels nichtlinearer Regression berechnete Systemparameter der Submodelle, entsprechen den Exponenten einer Exponentialfunktion: $c = A \cdot e^{-\alpha \cdot (t-t_{\text{lag}})} + B \cdot e^{-\beta \cdot (t-t_{\text{lag}})} + C \cdot e^{-\gamma \cdot (t-t_{\text{lag}})} \dots$ wobei $b_1 = \alpha$ usw., d.h. sie sind identisch mit der in der Literatur gängigen Bezeichnung α -, β -, und γ -Phase
Terminale Eliminationskonstante	λ_z [h^{-1}]	$\lambda_z = b_i$ wobei $i =$ Index des Exponenten mit der längsten Halbwertszeit
(Mikro-), Verteilungskonstanten	k_{ij} [h^{-1}]	Geschwindigkeitskonstanten erster Ordnung, die den Massentransfer von Kompartiment i nach Kompartiment j beschreiben, wobei k_a die Absorptionskonstante bei oraler/extravasaler Applikation ist
Halbwertszeit	$t_{1/2}$ (b_i, k_{ij}) [h]	Halbwertszeiten der entsprechenden Dispositions- oder Mikrokonstanten

Das biokinetische Modell, welches die Verteilung, Metabolisierung und Elimination der Thiaminderivate beschreibt, ist in Abb. 4-6 dargestellt. Es handelt sich um ein Mehrkompartiment-Modell mit Submodellen (S1 = Dosis, S2 = Disposition, S3 = Ausscheidung). Dieses Mehrkompartiment-

Modell ist vom *linearen* Typ, d.h. bestimmte Parameter (z.B. AUC) sind direkt proportional zur Dosis. Außerdem werden alle Parameter, die mit der Disposition der Substanzen verbunden sind (z.B. Verteilungsvolumen), als von der Dosis unabhängige Konstanten behandelt (Heinzel et al., 1993).

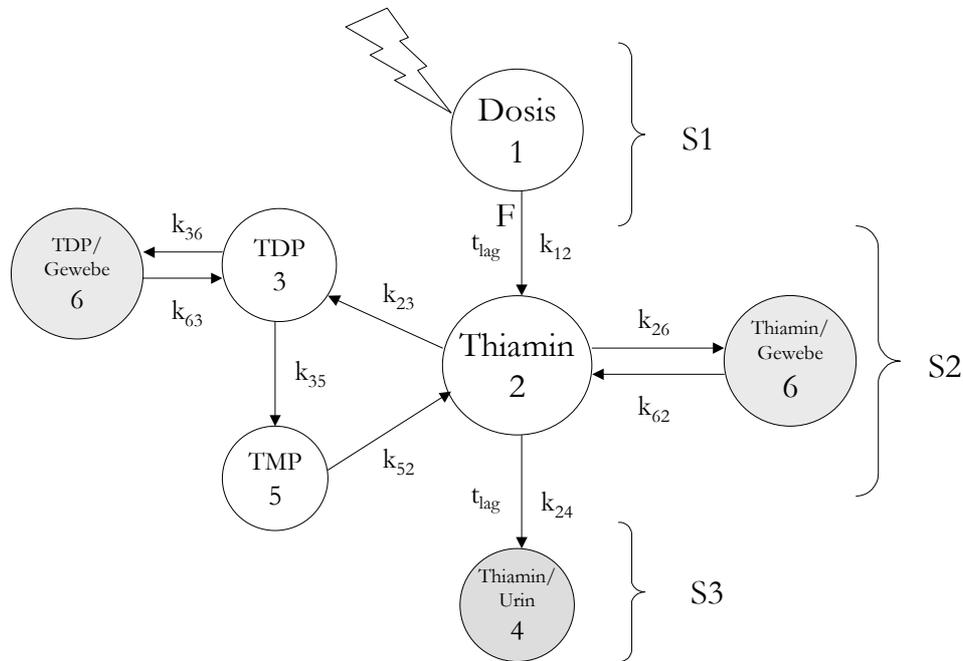


Abb. 4-6 Mehrkompartiment-Modell mit Submodellen

Erläuterung: T-NO₃ bzw. BTMP gelangen nach oraler Gabe in den Gastrointestinaltrakt (Kompartiment 1 = S1), die absorbierte Dosisfraktion F (Thiamin bzw. das aus BTMP entstehende Thiamin) wird mit k_{12} ($=k_a$) ins Kompartiment 2 verteilt (entspricht Plasma = zentrales Kompartiment). Für die Berechnung des Verteilungsvolumens wurde $F = 1$ angenommen³. Thiamin wird zu TDP phosphoryliert (Kompartiment 3) und über TMP (Kompartiment 5) zurück zu Thiamin dephosphoryliert. Thiamin gelangt mit k_{26} in die Gewebe (Kompartiment 6), ebenso wie TDP (k_{36}). Die Kompartimente 3, 5 und 6 werden zum Submodell S2 (Disposition) zusammengefasst. Mit einer Verzögerungszeit (t_{lag}), die der Nierenpassage entspricht, wird Thiamin in einem Eliminationskompartiment disponiert. Dieses entspricht der Ausscheidung im Urin (Kompartiment 4 = S3), bei den anurischen Patienten entspricht dies einem virtuellen Kompartiment, das die Summe aller Eliminationsprozesse beschreibt. Anhand dieses Modells wurden die in Tab. 4-12 dargestellten Parameter berechnet.

³ Zur Vorgehensweise vgl. Kitamori und Itokawa (1993).

In dem Mehrkompartiment-Modell werden die biokinetischen Abläufe der Konzentrationen der drei Substanzen durch ein lineares Differentialgleichungssystem, das nur Differentialquotienten nullter und erster Ordnung enthält, beschrieben (Gl. 4.9-4.14).

$$\frac{dy_1}{dt} = -k_{12} \cdot y_1 \quad (4.9)$$

$$\frac{dy_2}{dt} = k_{12} \cdot y_1 + k_{62} \cdot y_6 + k_{52} \cdot y_5 - K_2 \cdot y_2 \quad (4.10)$$

$$\frac{dy_3}{dt} = k_{23} \cdot y_2 - (k_{35} + k_{36}) \cdot y_3 \quad (4.11)$$

$$\frac{dy_4}{dt} = k_{24} \cdot y_2 \quad (4.12)$$

$$\frac{dy_5}{dt} = k_{35} \cdot y_3 - k_{52} \cdot y_5 \quad (4.13)$$

$$\frac{dy_6}{dt} = k_{26} \cdot y_2 - k_{63} \cdot y_6 \quad (4.14)$$

Hierbei ist $K_2 = k_{23} + k_{24} + k_{26}$.

Die Berechnung der Halbwertszeiten der Systemparameter/Mikrokonstanten erfolgte nach Gl. 4.15.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{b_i} \quad (4.15)$$

Die Flächen unter den Blutspiegelkurven (AUC_{model}) ergaben sich gemäß Gl. 4.16.

$$AUC_{\text{model}} = \int_0^{\infty} C(t) dt \quad (4.16)$$

Die Mean residence time (MRT) errechnet sich nach Gl. 4.17.

$$MRT = \frac{\int_0^{\infty} C(t) \cdot t \cdot dt}{AUC} \quad (4.17)$$

Das scheinbare Verteilungsvolumen in Litern errechnet sich für die einzelnen Thiaminphosphatester nach Gl. 4.18.

$$V_D = \frac{CL}{\lambda_z} \quad (4.18)$$

In die pharmakokinetische Analyse gingen die Individualdaten der 20 Patienten ein. Zwecks Unterscheidung zwischen den durch die tägliche Thiaminzufuhr verursachten Thiaminkonzentrationen und des durch die Verabreichung der Prüfmedikation bedingten Anstiegs der Thiaminkonzentrationen müssen die Nüchternwerte von den postabsorptiv gemessenen Werten jeweils subtrahiert werden (Kitamori und Itokawa, 1993). Da Messungen des physiologischen Tagesprofils der in die Berechnung eingehenden Substanzen keine diurnale Abhängigkeit zeigten (Ziems, 1997), wurde der zum Zeitpunkt $t = 0$ gemessene Nüchtern- (Basis) Wert als konstanter Wert abgezogen. Alle Messreihen gingen mit der gleichen Gewichtung (Faktor 1,0) in die Anpassung ein. Sämtliche Berechnungen wurden mit dem Softwarepaket TOPFIT, Version 2.0, vorgenommen (Heinzel et al., 1993). Dieses Programm beruht auf der numerischen Integration der Differentialgleichungen. Die Berechnung der dazu nötigen Modellparameter wird im Folgenden erklärt. Unabhängig von der Art des Modells liegt den Berechnungen in TOPFIT die allgemeine pharmakokinetische Modellfunktion (Gl. 4.19) zugrunde.

$$c(t) = P_0 \cdot f(p_1, \dots, p_n; t) \quad (4.19)$$

Hierbei ist $c(t)$ die Konzentration, t die Zeit und P_0 ein Proportionalitätsfaktor, der immer linear ist und folglich mittels linearer Regression iterativ berechnet werden kann. Die Buchstaben $p_1 \dots p_n$ bezeichnen primäre Modellparameter, die neben P_0 zur Beschreibung des pharmakokinetischen Modells benötigt werden. TOPFIT passt alle Parameter p_i innerhalb eines Bereiches, dessen untere und obere Grenzen durch bestimmte mathematische oder physiologische Beziehungen determiniert sind aber durch den Nutzer verändert werden können, iterativ mittels nichtlinearer Regression an. Im Falle benutzerdefinierter pharmakokinetischer Modelle sind dies k_{ij} (primäre Modellparameter) womit die Koeffizientenmatrix aufgestellt wird, um die sog. Eigenvalues b_i (sekundäre Modellparameter) zu berechnen. Diese entsprechen in benutzerdefinierten Kompartiment-Modellen den Dispositions konstanten und sind mathematisch gesehen Exponenten von Exponentialgleichungen, die die Verteilung nach dem gewählten pharmakokinetischen Modell beschreiben (s. Tab. 4-12). Nach der Iteration kann also der Konzentrations-Zeit-Verlauf einer Substanz im Organismus folgendermaßen beschrieben werden (Gl. 4.20).

$$c(t) = P_0 \cdot \sum_{i=1}^n A_i \cdot e^{-b_i \cdot (t-t_{lag})} \quad (4.20)$$

Hierin bezeichnet n die Anzahl der exponentiellen Terme (je nach Anzahl der Kompartimente) und A_i die Koeffizienten (Amplituden oder Proportionalitätsfaktoren) der einzelnen Exponentialterme. A_i entspricht bei der grafischen Darstellung dem Schnittpunkt mit der Ordinate, wenn eine einzelne exponentielle Funktion $y = A_i \cdot e^{-b_i \cdot t}$ gegen die Zeit aufgetragen wird und hat die Bedeutung einer fiktiven Anfangskonzentration (C_0).

In TOPFIT können grundsätzlich zwei Berechnungsmodi durchgeführt werden. Der *iterative Modus* berechnet die primären Modellparameter und den Proportionalitätsfaktor P_0 mittels nichtlinearer bzw. linearer Regression. Im *Simulationsmodus* werden die Parameter nicht berechnet, sondern als Konstanten betrachtet und dienen folgerichtig dazu, pharmakokinetische Daten (z.B. Konzentrationen) in Submodellen (z.B. Gewebe) zu generieren, die mit dem vorgegebenen Modell konform sind, in denen aber aufgrund ihrer Unzugänglichkeit keine Konzentrationsmessungen des Wirkstoffes durchgeführt werden können. Wenn der Simulationsmodus unmittelbar nach der Datenanpassung (Iteration) gewählt wird, werden die dabei gewonnenen primären Modellparameter automatisch für diesen Zweck benutzt. Der Simulationsmodus diente in vorliegender Arbeit dem Zweck, den Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin im Gewebe zu berechnen.

4.1.4 Statistische Methoden

Die deskriptive Statistik umfasste Mittelwert, Standardabweichung, Median und 95%-Konfidenzintervall. Alle Variablen wurden grundsätzlich vor der Anwendung schließender statistischer Verfahren auf ihre Normalverteilung mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstests überprüft. Sofern in den Tabellen nicht anders angegeben, erfolgte bei Normalverteilung der anschließende Gruppenvergleich (Gruppierungsvariable: Prüfmedikation) unter Verwendung des T-Tests nach Student (zweiseitige Fragestellung), im Falle nicht normalverteilter Variablen mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests. Veränderungen der erythrozytären TDP-Konzentration im Zeitverlauf wurden mittels zweifacher Varianzanalyse unter Verwendung der GLM-Prozedur (General Linear Model) überprüft. Die Änderung der ETKA und ihres Aktivierungskoeffizienten zu den Zeitpunkten 0 und 10 Stunden wurde mittels des nicht-parametrischen Wilcoxon-Rangsummen-Tests für abhängige Stichproben geprüft. Beziehungen zwischen den Variablen wurden mittels Regressionsanalyse unter der Prozedur CURVEFIT analysiert. Bivariate Korrelationen wurden mittels des Pearson-Korrelations-Koeffizienten berechnet.

Die Erstellung von Histogrammen, Boxplots, Streudiagrammen sowie alle genannten statistischen Berechnungen erfolgten mit SPSS für Windows™, Release 10.0.5 (November 1999, SPSS Inc., Chicago).

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Konzentrations-Zeit-Verläufe des Thiamins und Thiaminphosphatester im Blut

Die prä- und postabsorptiven Konzentrationen von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern werden im Folgenden aufgeführt, die mittleren Blutspiegelkurven mit Basiswerten werden in den anschließenden Abbildungen dargestellt. Die Einzelwerte sämtlicher Konzentrations-Zeit-Verläufe sind dem Anhang zu entnehmen. Die Konzentration des TTP im Vollblut lag in über 90% der Messungen unterhalb der Bestimmungsgrenze und wird deshalb im Ergebnisteil nicht betrachtet. Im Plasma wurde überhaupt kein TTP nachgewiesen. Soweit nicht anders angegeben, handelt es sich bei den im Ergebnisteil protokollierten Werten um Mittelwerte, gebildet aus den Individualwerten der 20 Patienten. Die Individualwerte sind Mittelwerte aus mindestens zwei Einzelbestimmungen.

4.2.1.1 Basiswerte im Vollblut und Plasma

Die absoluten Gehalte von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern sowie des Gesamthiamins (entspricht Thiamin^Σ = Summe von Thiamin, berechnet als Base, und des Masseanteils von Thiamin in TDP und TMP) sind in Tab. 4-13 dargestellt.

Tabelle 4-13 Basiswerte von Thiamin, TMP, TDP und Gesamthiamin im Vollblut und Plasma

Substanz	Mittelwert ± SD (ng/ml)	Wertebereich (ng/ml)
<i>Vollblut:</i>		
Thiamin	5,41 ± 3,18	1,55-13,66
TMP	2,48 ± 1,05	0,75 - 4,67
TDP	52,72 ± 13,96	32,19-77,16
Thiamin ^Σ	43,50 ± 11,70	25,20-68,12
<i>Plasma:</i>		
Thiamin	11,59 ± 5,18	4,33-21,33
TMP	1,96 ± 1,12	0,33- 4,04
Thiamin ^Σ	14,21 ± 5,12	7,99-25,35

Im Plasma betrug der Anteil des freien Thiamins am Gesamthiamin $79,5 \pm 13,1\%$. Das Geschlecht hatte keinen Einfluss auf die Basiswerte. Die Konzentrationen des Gesamthiamins sowie aller quantifizierbaren Thiaminphosphorsäureester im Blut und Plasma sind normalverteilt (Abb. 4-7).

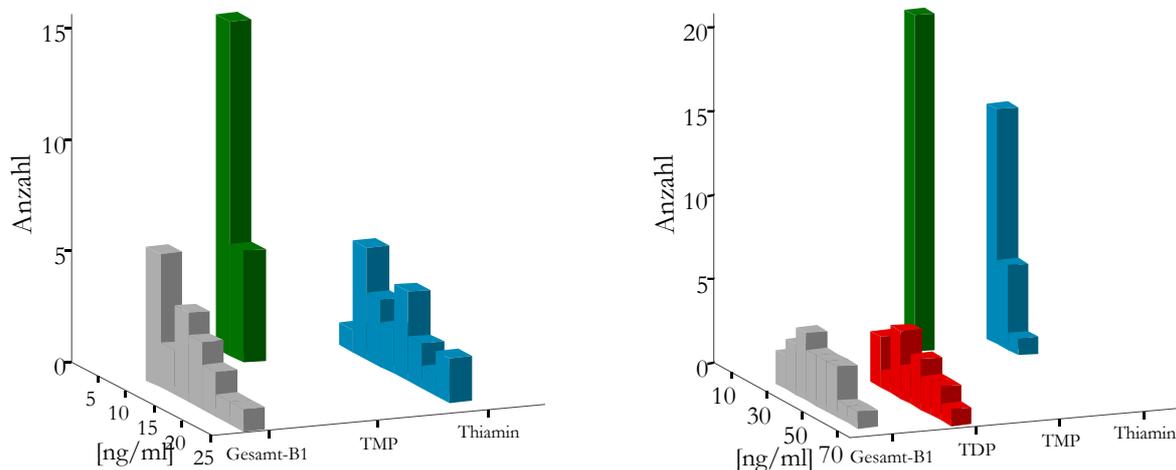


Abb. 4-7 Histogramm der Thiaminkonzentration im Plasma (links) und Vollblut (rechts) vor Applikation der Prüfmedikation

Im Gegensatz zu den Gesamthiaminkonzentrationen im Vollblut sind die Plasmaspiegel stärker linkssteil verteilt; das Schiefemaß (\pm Standardfehler) beträgt entsprechend $0,37 \pm 0,51$ für Vollblut und $0,67 \pm 0,51$ für Plasma. Da das Schiefemaß weniger als doppelt so groß ist wie der Standardfehler, liegt keine extreme Abweichung von der Symmetrie vor.

4.2.1.2 Konzentrations-Zeit-Verlauf im Vollblut

Tabelle 4-14 Mittlere Konzentrationen von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (ng/ml) nach oraler Gabe von BTMP, $N = 10$

Verbindung	Zeit (h)	0	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	24
Thiamin	\bar{x}	5,4	47,5	85,6	111,0	115,2	107,9	98,5	94,2	80,2	61,2	51,3	25,2
	s	3,4	43,5	57,3	52,1	44,7	41,3	33,8	30,5	32,4	25,4	21,8	10,2
	V.K. (%)	62,9	91,5	67,0	47,0	38,8	38,3	34,3	32,4	40,3	41,5	42,6	40,5
TMP	\bar{x}	2,2	4,3	5,6	6,8	7,3	7,0	8,1	8,6	9,5	10,0	8,2	6,5
	s	0,9	1,5	2,2	1,9	2,4	2,0	1,5	2,6	2,7	4,5	3,9	2,7
	V.K. (%)	41,4	35,4	38,7	27,9	32,8	29,2	18,3	30,3	28,9	45,2	47,3	42,0
TDP	\bar{x}	52,8	66,5	77,0	85,5	94,9	107,1	116,7	119,3	115,8	126,3	126,3	107,3
	s	11,1	14,5	17,9	15,9	20,2	21,8	22,1	23,0	30,3	27,2	23,7	20,3
	V.K. (%)	21,0	21,8	23,2	18,6	21,3	20,4	19,0	19,3	26,2	21,6	18,8	18,9
Thiamin ^Σ	\bar{x}	43,3	96,6	143,1	175,4	186,5	187,2	185,2	183,2	167,7	156,3	144,6	104,1
	s	10,7	49,0	61,1	54,3	46,9	43,8	34,6	31,5	31,4	31,6	27,3	18,7
	V.K. (%)	24,8	50,7	42,7	31,0	25,2	23,4	18,7	17,2	18,7	20,2	18,9	17,9

Die nach Applikation von 100 mg BTMP (entspricht 57,1 mg Thiamin, berechnet als Base) bestimmte mittlere Verlaufskurve von Thiamin ist durch einen steilen Anstieg und einen allmählichen Abfall gekennzeichnet (Abb. 4-8). Das globale Maximum (115,2 ng/ml) wird nach 1,5 Stunden (graphisch) erreicht. Das Verhältnis von C_{\max} /Basiswert beträgt 21,3. Nach 24 Stunden ist die Thiaminkonzentration im Vollblut mit 25,2 ng/ml gegenüber dem Basiswert um 19,8 ng/ml (280%) erhöht (Tab. 4-14). Die mittlere TMP-Verlaufskurve steigt kontinuierlich bis zu ihrem Maximum (10 ng/ml) nach 8 Stunden an. Der Verlauf ist durch eine Plateauphase von 3 bis 10 Stunden mit Konzentrationen von 8 bis 10 ng/ml gekennzeichnet. Nach 24 Stunden ist die TMP-Konzentration gegenüber dem Ausgangswert fast dreimal so hoch. Die TDP-Konzentration steigt fast linear bis zu einem lokalen Maximum nach 4 Stunden an, um danach bis 6 Stunden leicht abzufallen.

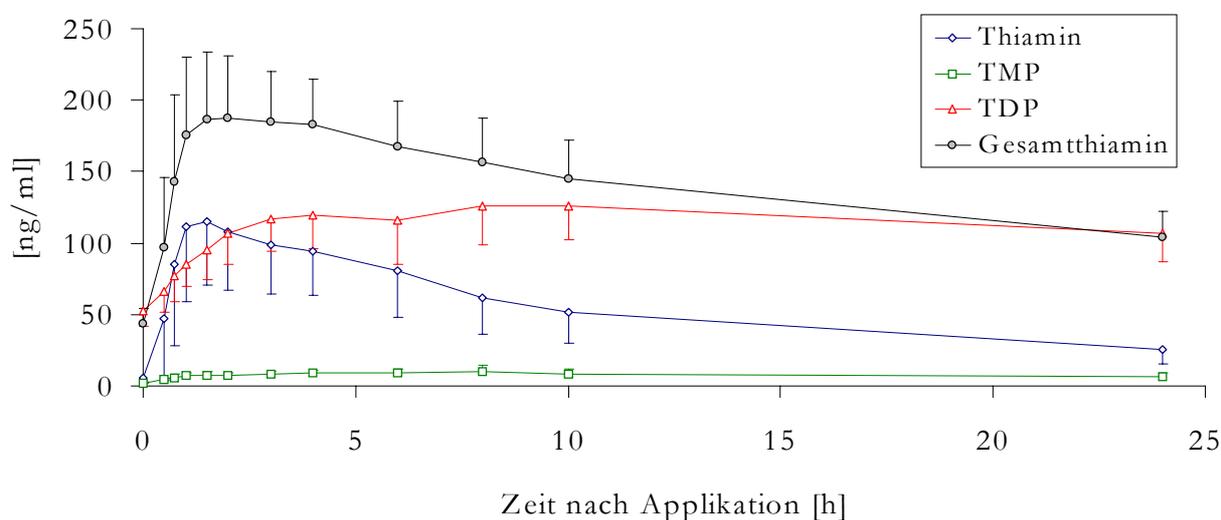


Abb. 4-8 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (Mittelwert \pm SD) nach oraler Gabe von 214 μ mol BTMP

Anschließend geht die Verlaufskurve in eine Plateauphase über, innerhalb der das globale Maximum mit 126,3 ng/ml im Bereich von 8 bis 10 Stunden nach Applikation erreicht wird. Das Verhältnis C_{\max} /Basiswert beträgt 2,4. Nach 24 Stunden ist die Blutkonzentration mit 107,3 ng/ml um ca. 100% gegenüber dem Basiswert erhöht. Die Thiamin Σ -Verlaufskurve ist analog zur Thiaminverlaufskurve durch einen steilen Anstieg gekennzeichnet. Ihr Maximum ist nach 2 Stunden erreicht und beträgt 187,2 ng/ml. Das Verhältnis C_{\max} /Basiswert beträgt 4,3. Durch den beginnenden Abfall der Thiaminverlaufskurve und den parallel dazu stattfindenden Anstieg des TDP kommt es zur Ausprägung eines Plateaus im Bereich von 1,5 bis 4 Stunden. Nach 24 Stunden ist die Konzentration gegenüber dem Basiswert um 139% erhöht (Tab. 4-14).

Der Konzentrations-Zeit-Verlauf der Thiaminphosphatester nach Gabe von 100 mg T-NO₃ (entspricht 81,4 mg Thiamin, berechnet als Base) ist folgendermaßen gekennzeichnet. Die mittlere Thiaminverlaufskurve steigt kontinuierlich bis zu ihrem Maximum (17,5 ng/ml) nach 2 Stunden an (Tab. 4-15).

Tabelle 4-15 Mittlere Konzentrationen von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (ng/ml) nach oraler Gabe von T-NO₃, N = 10

Verbindung	Zeit (h)	0	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	24
Thiamin	\bar{x}	5,4	11,0	14,6	15,0	16,8	17,5	16,9	15,9	14,5	12,3	11,7	9,0
	s	3,2	4,3	5,7	5,5	7,2	7,4	7,1	6,4	5,5	4,0	3,6	4,0
	V.K. (%)	58,0	38,8	38,9	36,4	43,1	42,4	41,9	40,2	37,9	32,5	30,5	44,0
TMP	\bar{x}	2,8	3,8	4,7	5,4	5,4	5,3	5,4	5,4	5,0	4,5	4,1	3,8
	s	1,1	1,4	1,7	2,1	2,3	1,9	1,7	2,3	2,2	1,7	1,8	1,5
	V.K. (%)	41,4	38,5	36,3	38,4	42,3	35,8	31,6	42,6	44,7	38,0	44,5	40,2
TDP	\bar{x}	52,6	56,2	58,2	57,2	58,9	60,7	64,8	64,9	63,8	68,8	70,7	62,7
	s	17,0	15,7	14,6	14,6	16,5	14,0	17,4	16,8	18,2	16,0	17,9	17,7
	V.K. (%)	32,2	28,0	25,0	25,5	28,1	23,1	26,9	25,8	28,6	23,3	25,4	28,2
Thiamin ^Σ	\bar{x}	43,7	52,7	58,4	58,9	61,8	63,7	65,9	64,9	62,4	63,2	63,5	55,1
	s	13,2	14,7	11,9	12,4	13,1	13,2	14,4	13,3	14,4	13,6	14,7	13,2
	V.K. (%)	30,2	27,8	20,4	21,0	21,1	20,7	21,9	20,5	23,0	21,5	23,2	23,9

Im Vergleich zur Verlaufskurve nach BTMP liegt das Maximum des freien Thiamins im Bereich eines Plateaus (1,5 bis 3 Stunden) und fällt dann langsam ab. Das Verhältnis C_{\max} /Basiswert beträgt 3,2. Nach 24 Stunden ist die mittlere Thiaminkonzentration um 66% erhöht. Die TMP-Konzentration steigt bis 1 Stunde nach Applikation an, um dann in eine ausgeprägte Plateauphase im Bereich von 1 bis 6 Stunden überzugehen (Abb. 4-9). Der Verlauf der TDP-Konzentration ist analog zu dem nach Gabe von BTMP bimodal; er erreicht ein lokales Maximum nach 4 Stunden und fällt dann etwas ab. Anschließend kommt es im Bereich von 6 bis 10 Stunden zur Ausprägung eines Plateaus, in dem C_{\max} mit 70,7 ng/ml erreicht wird. Das Verhältnis C_{\max} /Basiswert beträgt 1,3. Nach 24 Stunden ist die TDP-Konzentration gegenüber dem Basiswert um 19% erhöht. Die Thiamin^Σ-Konzentration wird in ihrem zeitlichen Verlauf aufgrund der wesentlich geringeren freien Thiaminkonzentration von der TDP-Verlaufskurve dominiert. Das Verhältnis C_{\max} /Basiswert beträgt 1,5. Nach 24 Stunden ist die Konzentration gegenüber dem Basiswert um 26% erhöht (Tab. 4-15).

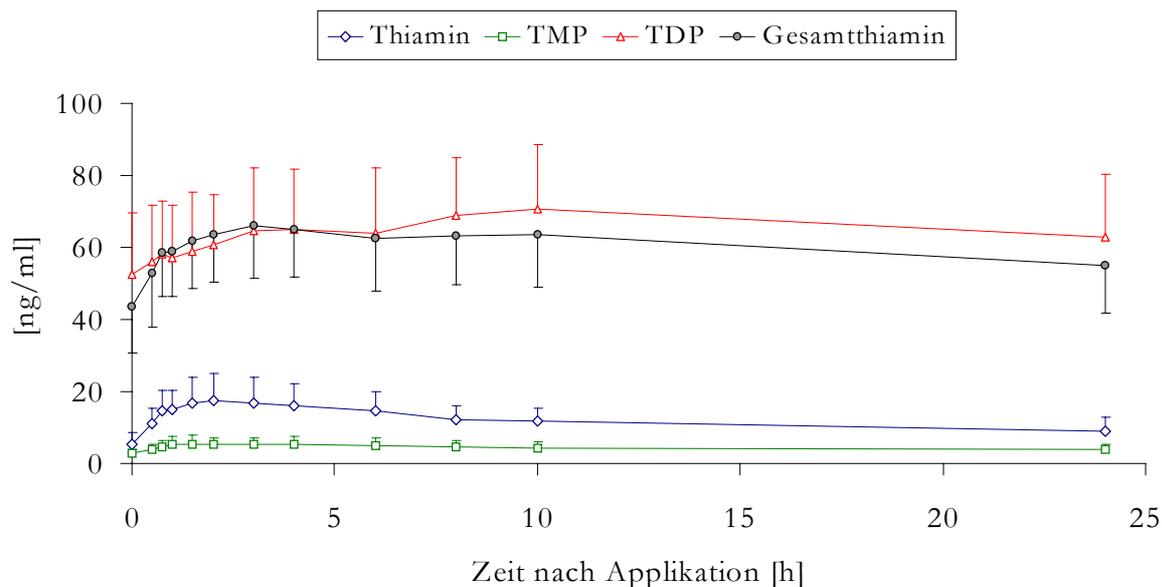


Abb. 4-9 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (Mittelwert \pm SD) nach oraler Gabe von 327 $\mu\text{mol T-NO}_3$

4.2.1.3 Konzentrations-Zeit-Verlauf im Plasma

Nach Gabe von BTMP steigt die Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration bis zu einem Maximum von 153,2 ng/ml nach 1,5 Stunden steil an (Tab. 4-16).

Tabelle 4-16 Mittlere Konzentrationen von Thiamin, TMP und Thiamin $^{\Sigma}$ im Plasma (ng/ml) nach oraler Gabe von BTMP, N = 10

Verbindung	Zeit (h)	0	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	24
Thiamin	\bar{x}	11,6	74,0	118,7	150,0	153,2	144,0	133,3	124,3	99,2	82,1	72,2	38,2
	s	4,3	62,5	76,1	65,9	49,5	46,2	26,4	42,2	41,8	34,4	30,2	14,3
	V.K. (%)	37,5	84,5	64,1	43,9	32,3	32,1	19,8	34,0	42,2	41,9	41,8	37,6
TMP	\bar{x}	2,1	2,5	2,6	3,0	3,9	3,9	3,7	3,9	3,8	3,7	3,5	3,0
	s	1,3	1,6	1,9	2,3	3,4	4,2	4,8	4,8	4,8	5,0	5,7	4,3
	V.K. (%)	62,9	64,2	72,0	78,2	87,3	109,5	129,4	124,4	128,4	136,0	162,7	142,2
Thiamin $^{\Sigma}$	\bar{x}	14,4	77,1	121,8	153,5	157,4	148,3	137,2	128,5	103,5	86,3	76,2	41,6
	s	4,8	62,8	75,5	64,9	48,5	44,7	23,3	40,9	41,7	35,0	31,3	16,9
	V.K. (%)	33,3	81,4	62,0	42,3	30,8	30,2	17,0	31,8	40,3	40,5	41,1	40,5

Nach 24 Stunden ist die Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration um 229% gegenüber dem Basiswert erhöht. Das Verhältnis $C_{\text{max}}/\text{Basiswert}$ beträgt 13,2. Danach sinkt die Konzentration linear bis 8 Stunden ab und nimmt anschließend einen flacheren Verlauf bis 24 Stunden nach Applikation an (Abb. 4-10). Der Verlauf des TMP ist durch eine sehr hohe interindividuelle Variation gekennzeichnet. Die mittlere maximale Konzentration wird auf einem ausgeprägten Plateau (von 1,5 bis 8 Stunden nach Applikation) erreicht.

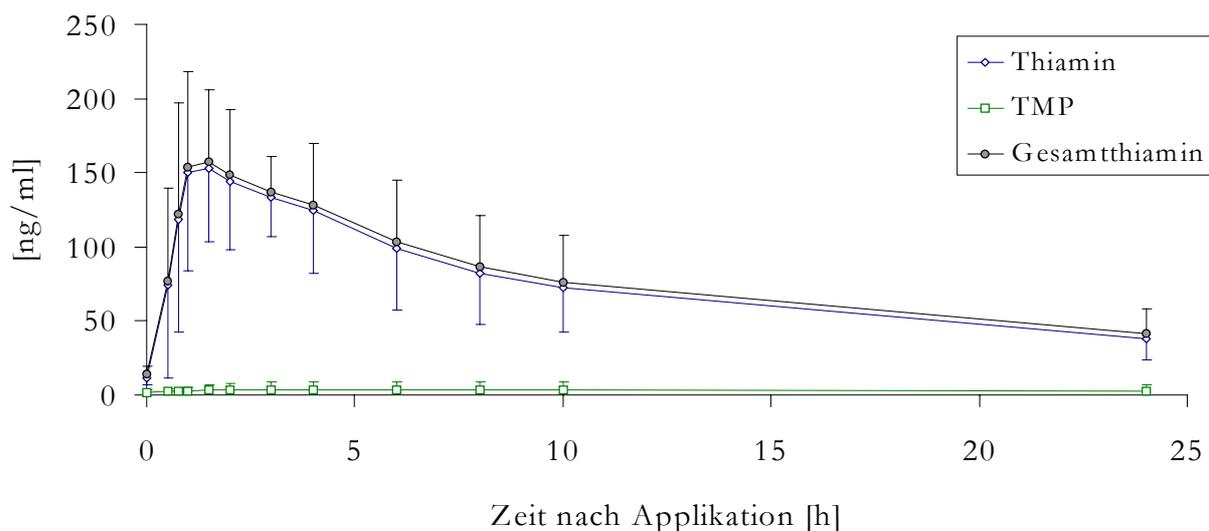


Abb. 4-10 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin, TMP und Thiamin $^{\Sigma}$ im Plasma (Mittelwert \pm SD) nach oraler Gabe von 214 μ mol BTMP

Nach Gabe von T-NO $_3$ steigt die Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration bis zu einem Maximum von 38,3 ng/ml nach 2 Stunden steil an (Tab. 4-17).

Tabelle 4-17 Mittlere Konzentrationen von Thiamin, TMP und Thiamin $^{\Sigma}$ im Plasma (ng/ml) nach oraler Gabe von T-NO $_3$, $N = 10$

Verbindung	Zeit (h)	0	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	10	24
Thiamin	\bar{x}	11,6	28,2	32,1	32,6	32,4	34,4	32,9	29,6	26,8	22,5	21,5	17,4
	s	6,2	14,2	13,5	11,5	10,5	11,2	11,6	9,6	7,7	6,3	6,0	7,3
	V.K. (%)	52,9	50,4	41,9	35,3	32,3	32,6	35,2	32,6	28,8	28,0	27,9	41,7
TMP	\bar{x}	1,8	2,6	2,6	3,0	3,6	3,8	4,4	4,1	4,1	3,7	3,3	2,1
	s	1,0	2,0	2,6	3,5	4,8	5,7	7,2	7,3	7,0	6,2	6,4	4,3
	V.K. (%)	51,7	78,6	97,7	116	134	148	165	175	171	168	193	204
Thiamin $^{\Sigma}$	\bar{x}	14,0	30,8	34,9	36,0	36,3	38,3	37,2	33,6	30,8	26,1	24,8	19,7
	s	5,7	14,4	13,2	12,3	12,1	12,8	14,2	13,4	11,6	9,8	9,2	9,1
	V.K. (%)	40,6	46,7	37,9	34,1	33,3	33,4	38,1	39,8	37,8	37,3	37,1	46,4

Im Gegensatz zum BTMP geht der Verlauf in ein Plateau (0,75 bis 3 Stunden) über, in dem C_{\max} erreicht wird (Abb. 4-11). Das Verhältnis C_{\max} /Basiswert beträgt 2,7. Ähnlich dem Verlauf nach BTMP ist der weitere Abfall zweiphasig, mit einem steilen Abschnitt bis 8 Stunden und einem flacheren Abschnitt bis 24 Stunden. Nach 24 Stunden ist die Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration um 41% gegenüber dem Basiswert erhöht.

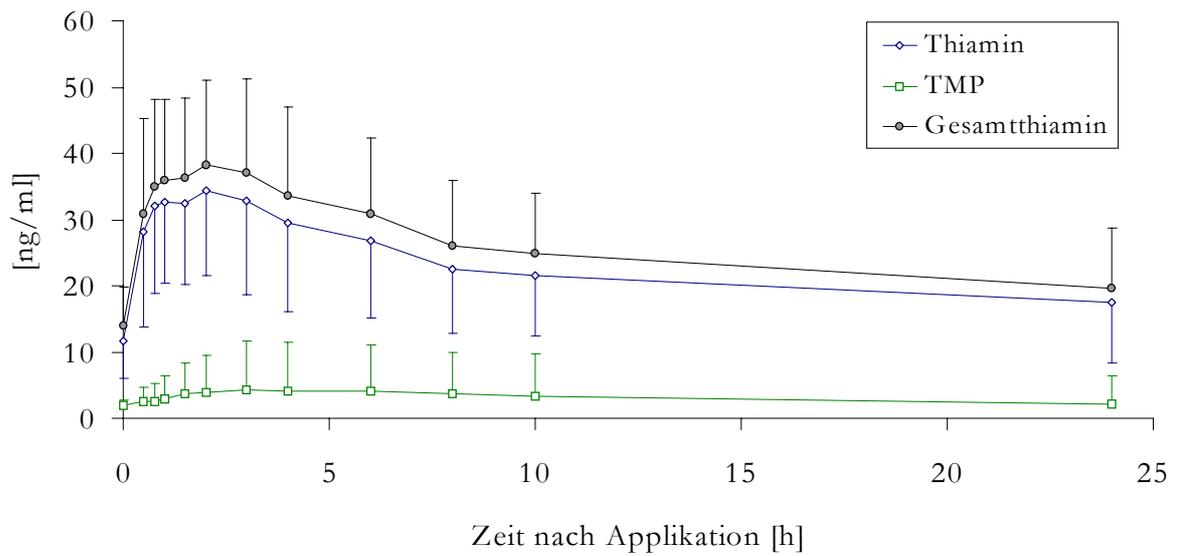


Abb. 4-11 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin, TMP und Thiamin^Σ im Plasma (Mittelwert ± SD) nach oraler Gabe von 327 μmol T-NO₃

4.2.2 Thiaminausscheidung im Urin

Die am Belastungstag gemessene Thiamin^Σ-Ausscheidung im 24-h-Urin betrug im Mittel 561,0 ± 589,3 μg nach Gabe von BTMP und 63,2 ± 91,9 μg nach Gabe von T-NO₃ (p = 0,026). Der Median (Wertebereich) betrug entsprechend 363,9 (0,0-1808,1) μg bzw. 1,6 (0,0-226,0) μg. Die große Variation ergibt sich unmittelbar aufgrund des hohen Anteils urämischer Patienten: In der BTMP-Gruppe waren zwei (20%) und in der T-NO₃-Gruppe fünf (50%), d.h. insgesamt 35%, anurisch.

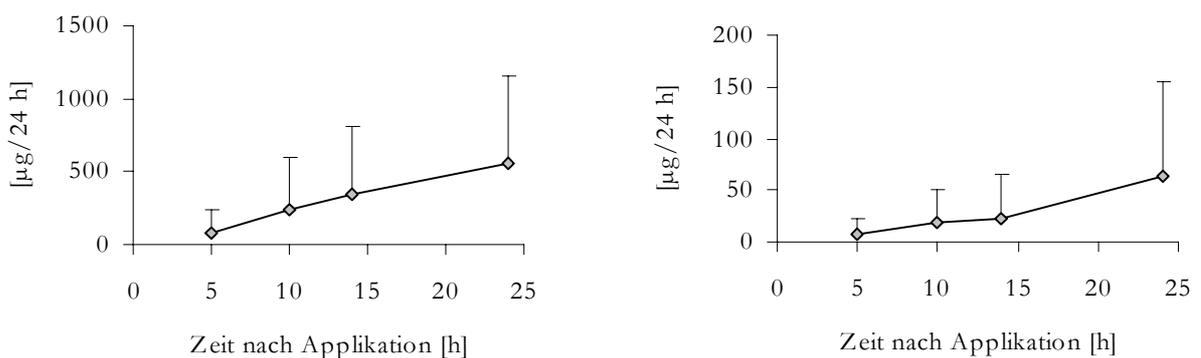


Abb. 4-12 Mittlere Summenausscheidung des Gesamtthiamins (Thiamin^Σ) im 24-h-Urin nach Applikation von BTMP (links) und T-NO₃ (rechts)

Die durch die Krankheit bedingten extremen diurnalen Schwankungen der (Rest)-Urinproduktion und -ausscheidung (Oligurie/Nokturie) führen zu einem flachen sigmoiden bzw. linearen Verlauf

der Summenkurven (Abb. 4-12). In den Urinfraktionen, die zu den genannten Zeitpunkten gesammelt wurden, war die Thiamin^Σ-Konzentration zwischen den Gruppen signifikant verschieden ($p = 0,002$, Abb. 4-13).

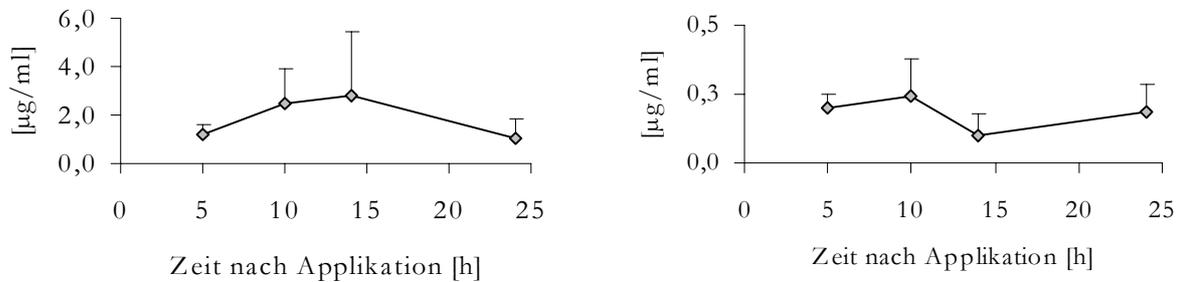


Abb. 4-13 Mittlere Thiamin^Σ-Konzentration in den Urinfraktionen nach Gabe von BTMP (links) und T-NO₃ (rechts)

TMP war der einzige im Urin nachweisbare Thiaminphosphorsäureester (Abb. 4-14).

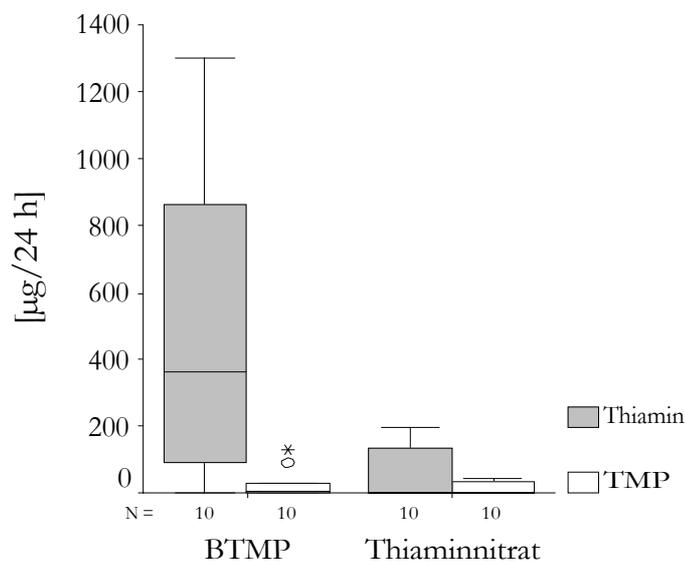


Abb. 4-14 Thiamin- und TMP-Ausscheidung im 24-h-Urin am Belastungstag nach Applikation der Prüfmedikation (*= Extremwert, ° = Ausreißer)

Mit Ausnahme der Thiaminausscheidung nach Gabe von BTMP war die Thiamin- bzw. TMP-Ausscheidung jeweils nicht normalverteilt (Abb. 4-14). Nach Gabe von BTMP war die Thiaminausscheidung mit durchschnittlich $494,0 \pm 468,5 \mu\text{g}$ (Median $361 \mu\text{g}$) signifikant höher als nach Gabe von T-NO₃ ($51,6 \pm 76,4 \mu\text{g}$, Median $1,46 \mu\text{g}$, $p = 0,02$). Die Ausscheidung von TMP nach Gabe

von BTMP hingegen war mit $28,2 \pm 44,9 \mu\text{g}$ (Median $6,8 \mu\text{g}$) von der nach Gabe von T-NO₃ nicht verschieden ($13,1 \pm 17,9 \mu\text{g}$, Median $0,15 \mu\text{g}$, $p = 0,48$). Am Belastungstag betrug das Verhältnis TMP/Thiamin durchschnittlich 15:347 nach Gabe von BTMP und 27:100 nach Gabe von T-NO₃. Bezogen auf die verabreichte Thiaminmenge, die in der Dosis enthalten war, wurden nach Gabe von BTMP $0,98 \pm 1,03\%$ (Median $0,64\%$), nach Gabe von T-NO₃ $0,08 \pm 0,11\%$ (Median $0,002\%$) der Dosis im Urin wiedergefunden (unkorrigierte Werte).

4.2.3 Erythrozytäre TDP-Konzentration und Transketolaseaktivität

Aus der TDP-Konzentration im Vollblut und Plasma wurde die TDP-Konzentration in den Erythrozyten gemäß Gl. 4.21 berechnet (Chen et al., 1986).

$$y_E = \frac{x_B - x_P \left(\frac{1 - Hk}{100} \right)}{\frac{Hk}{100}} \quad (4.21)$$

Hierin bezeichnet y_E die TDP-Konzentration in den Erythrozyten, x_B die TDP-Konzentration im Vollblut, x_P die TDP-Konzentration im Plasma und Hk den Hämatokrit in %. Die erythrozytäre TDP-Konzentration vor Applikation der Prüfmedikation ($162,4 \pm 41,7$, Mittelwert \pm SD) war normalverteilt jedoch extrem flachgipflig (Wölbungsmaß = $-0,95$, Abb. 4-15). Die mittlere ETKA betrug $3,63 \pm 0,73 \mu\text{kat/l}$, der mittlere TPP-Effekt betrug $10,9\%$ ($\alpha\text{-ETK} = 1,11 \pm 0,06$).

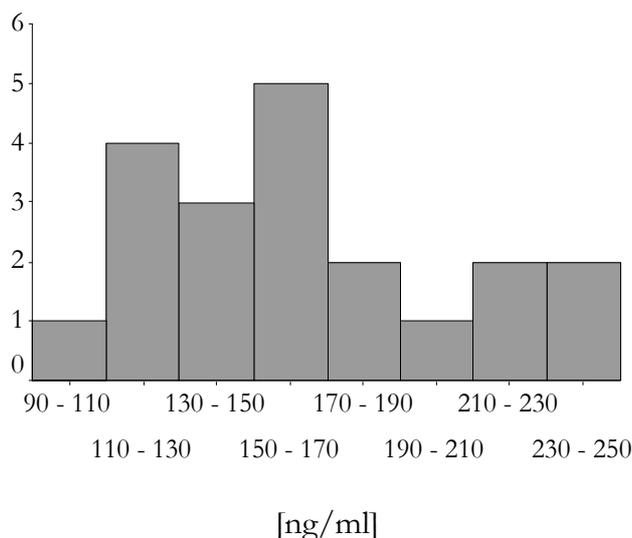


Abb. 4-15 Histogramm der erythrozytären TDP-Konzentration vor Applikation der Prüfmedikation

Nur bei einem Patient lag α -ETK über dem Grenzwert für einen mangelhaften Versorgungszustand (α -ETK > 1,25, Anonym, 2000b). Bei den übrigen 19 Patienten war der Aktivierungskoeffizient ausnahmslos kleiner als 1,20 (Referenzbereich des marginalen Thiaminstatus: 1,20-1,24, Anonym, 2000b).

Zwischen der erythrozytären TDP-Konzentration und der ETKA bzw. α -ETK bestanden keine Beziehungen (Abb. 4-16).

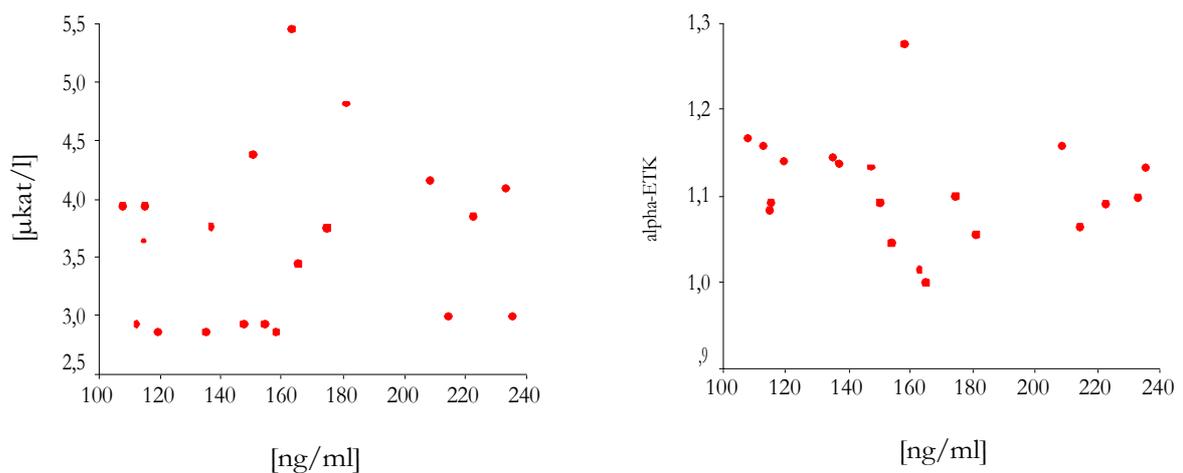


Abb. 4-16 ETKA und α -ETK in Abhängigkeit von der erythrozytären TDP-Konzentration vor Applikation der Prüfmedikation

Zwischen der ETKA und α -ETK bestand eine schwache exponentielle Beziehung, die jedoch keine statistische Signifikanz erreichte ($p = 0,055$, Abb. 4-17).

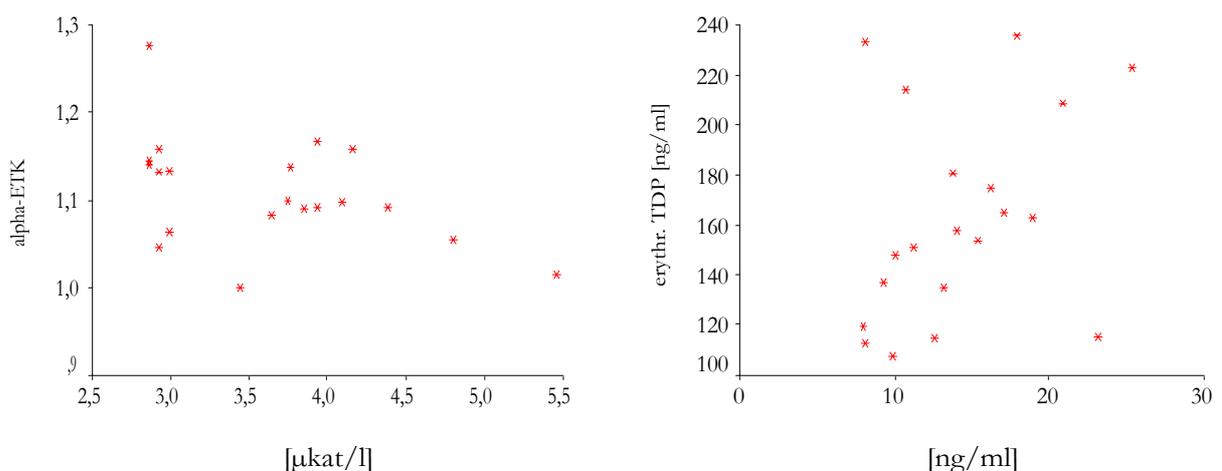


Abb. 4-17 α -ETK in Abhängigkeit von der absoluten ETKA (links) und erythrozytäre TDP-Konzentration in Abhängigkeit von korrespondierenden Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma (rechts) vor Applikation der Prüfmedikation

Darüber hinaus bestand keine Abhängigkeit der erythrozytären TDP-Konzentration von der korrespondierenden Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma (Abb. 4-17). Eine positive Korrelation bestand zwischen der ETKA und dem Serum-Proteingehalt ($r = 0,67$, $p = 0,001$). Überraschenderweise konnte eine inverse Korrelationen zwischen der ETKA und der Albuminkonzentration ($r = -0,58$, $p = 0,007$) und eine positive Korrelation zwischen α -ETK und der Albuminkonzentration ($r = 0,5$, $p = 0,02$) beobachtet werden. Die Hämoglobinkonzentration korrelierte weder mit der ETKA noch α -ETK. Auch zwischen dem Alter, der Dauer der Niereninsuffizienz, der Dauer der HD-Behandlung und der ETKA bzw. α -ETK bestanden jeweils keine Korrelationen.

Tabelle 4-18 TDP-Konzentration in den Erythrozyten und Aktivität der erythrozytären Transketolase vor Applikation, zum Zeitpunkt t_{max} sowie 10 und 24 h nach Applikation der Prüfmedikation, Mittelwert \pm SD (95%-Konfidenzintervall des Mittelwertes)

Parameter	Prüfmedikation		Signifikanz [‡]
	BTMP 214 μ mol p.o. (57,1 mg Thiamin)	T-NO ₃ 327 μ mol p.o. (81,4 mg Thiamin)	
<i>Vor Applikation</i>			
TDP (ng/ml)	158,7 \pm 30,9 (136,6 ; 180,8) ^a	166,2 \pm 51,8 (129,1 ; 203,3) ^a	$p = 0,700$
ETKA (μ kat/l) [†]	3,54 \pm 0,68 (3,06 ; 4,03) ^a	3,71 \pm 0,81 (3,13 ; 4,29) ^a	$p = 0,623$
α -ETK [†]	1,10 \pm 0,07 (1,05 ; 1,15) ^a	1,12 \pm 0,05 (1,08 ; 1,15) ^a	$p = 0,582$
<i>Zum Zeitpunkt t_{max} (h)</i>			
TDP (ng/ml)	7,6 \pm 2,3 (6,0 ; 9,2)	8,3 \pm 2,7 (6,4 ; 10,2)	$p = 0,535$
TDP (ng/ml)	408,8 \pm 43,4 (377,7 ; 439,9) ^b	231,79 \pm 50,5 (195,7 ; 267,9) ^b	$p < 0,001$
<i>10 h nach Applikation</i>			
TDP (ng/ml)	383,1 \pm 57,7 (341,8 ; 424,3) ^c	227,1 \pm 54,6 (188,0 ; 266,2) ^b	$p < 0,001$
ETKA (μ kat/l) [†]	3,84 \pm 0,63 (3,38 ; 4,29) ^b	4,02 \pm 0,67 (3,54 ; 4,50) ^b	$p = 0,538$
α -ETK [†]	1,04 \pm 0,04 (1,01 ; 1,07) ^b	1,08 \pm 0,06 (1,03 ; 1,12) ^a	$p = 0,107$
<i>24 h nach Applikation</i>			
TDP (ng/ml)	325,8 \pm 0,9 (289,3 ; 362,2) ^d	200,5 \pm 50,5 (164,4 ; 236,6) ^d	$p < 0,001$

TDP-Konzentrationen mit unterschiedlichen Hochbuchstaben in einer Spalte sind signifikant verschieden (paarweiser Wilcoxon-Test): a versus b: $p < 0,01$; b versus c: $p < 0,05$; b versus d: $p < 0,01$; c versus d: $p < 0,01$; a versus c: $p < 0,01$; a versus d: $p < 0,01$; [†] für die Signifikanz von ETKA/ α -ETK (Wilcoxon-Test mit einseitiger Fragestellung) a versus b: $p < 0,05$; [‡] für den Gruppenvergleich zum jeweiligen Zeitpunkt

Der Einfluss der Prüfmedikation auf die zu beobachtenden Veränderungen des erythrozytären TDP-Gehaltes und der ETKA wurden im Querschnitt bestimmt, d.h. vor Applikation, zum Zeit-

punkt t_{\max} , nach 10 und 24 Stunden (Tab. 4-18). Hierbei konnte eine signifikante Erhöhung der ETKA in beiden Gruppen beobachtet werden. Der Aktivierungskoeffizient war nur in der BTMP-Gruppe nach 10 Stunden signifikant erniedrigt. Im Zeitverlauf konnten auch signifikante Unterschiede zwischen den mittleren erythrozytären TDP-Konzentrationen beider Gruppen beobachtet werden. Im Vergleich zur Gabe von T-NO₃ resultierte die von BTMP in einer durchschnittlich 77% höheren maximalen erythrozytären TDP-Konzentration. Die maximale TDP-Konzentration wurde - unabhängig vom Präparat - nach durchschnittlich 7,9 Stunden erreicht. Das Verhältnis von maximaler TDP-Konzentration zum Nüchternwert betrug $2,66 \pm 0,6$ in der BTMP-Gruppe und $1,44 \pm 0,2$ in der T-NO₃-Gruppe (Gruppenvergleich: $p < 0,001$). Nach 24 Stunden betrug das Verhältnis von TDP-Konzentration zum Nüchternwert noch $2,11 \pm 0,4$ in der BTMP- und $1,23 \pm 0,2$ in der T-NO₃-Gruppe (Gruppenvergleich: $p < 0,001$). Abb. 4-18 verdeutlicht, dass auch 10 Stunden nach Applikation der Prüfmedikation keine Korrelation zwischen den funktionellen und statischen Parametern bestand.

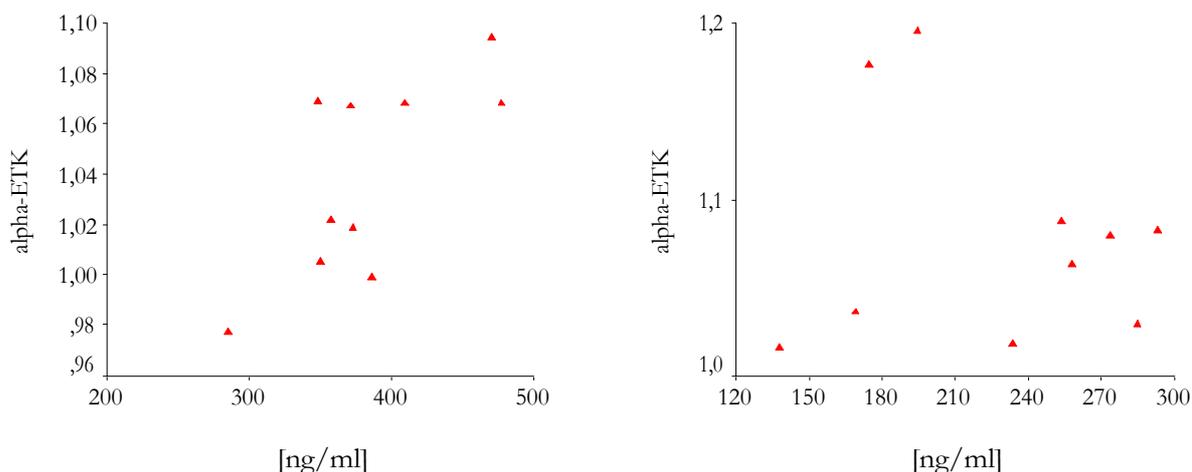


Abb. 4-18 α -ETK in Abhängigkeit vom erythrozytären TDP-Gehalt nach oraler Gabe von BTMP (links) und T-NO₃ (rechts)

4.2.4 Ergebnisse der kompartment-unabhängigen pharmakokinetischen Berechnungen

Die berechnete AUC der Thiamin^Σ-Konzentration im Vollblut übertraf nach Gabe von BTMP diejenige nach Gabe von T-NO₃ um 477,5% (Tab. 4-19). Um 198% höher war entsprechend auch die maximale Thiamin^Σ-Konzentration. Die maximale Thiamin^Σ-Konzentration wurde durchschnittlich 2,6 Stunden früher erreicht.

Tabelle 4-19 Pharmakokinetische Parameter von Thiamin Σ im Vollblut, Mittelwert \pm SD (95%-Konfidenzintervall des Mittelwertes)

Parameter	Prüfmedikation		Signifikanz
	BTMP 214 μ mol p.o. (57,1 mg Thiamin)	T-NO ₃ 327 μ mol p.o. (81,4 mg Thiamin)	
AUC (ng·h/ml)	2337,6 \pm 592,7 (1913,6 ; 2761,5)	404,8 \pm 145,9 (300,4 ; 509,2)	P < 0,001
C _{max} (ng/ml)	202,2 \pm 38,2 (174,9 ; 229,5)	67,7 \pm 14,0 (57,7 ; 77,7)	P < 0,001†
t _{max} (h)	2,3 \pm 1,2 (1,45 ; 3,3)	4,9 \pm 3,2 (2,6 ; 7,2)	P = 0,035†

† Mann-Whitney-U-Test

Die berechnete AUC der Thiamin Σ -Konzentration im Plasma übertraf nach Gabe von BTMP diejenige nach Gabe von T-NO₃ um 413% (Tab. 4-20). Auch die maximale Thiamin Σ -Konzentration war entsprechend um 294% höher. Der Zeitpunkt der maximalen Thiamin Σ -Konzentration war zwischen beiden Gruppen nicht verschieden.

Tabelle 4-20 Pharmakokinetische Parameter von Thiamin Σ im Plasma, Mittelwert \pm SD (95%-Konfidenzintervall des Mittelwertes)

Parameter	Prüfmedikation		Signifikanz
	BTMP 214 μ mol p.o. (57,1 mg Thiamin)	T-NO ₃ 327 μ mol p.o. (81,4 mg Thiamin)	
AUC (ng·h/ml)	1575,4 \pm 563,7 (1172,7 ; 1978,6)	307,1 \pm 173,2 (183,2 ; 431,0)	P < 0,001†
C _{max} (ng/ml)	176,2 \pm 48,5 (141,5 ; 210,9)	44,7 \pm 14,3 (34,5 ; 54,9)	P < 0,001
t _{max} (h)	1,5 \pm 1,0 (0,8 ; 2,2)	2,0 \pm 1,8 (0,7 ; 3,3)	P = 0,85†

† Mann-Whitney-U-Test

Zwischen beiden Gruppen bestand ein signifikanter Unterschied in der durchschnittlichen oralen Clearance (Tab. 4-21). Der Anteil der renalen an der oralen Clearance war in der BTMP-Gruppe durchschnittlich zehnfach höher als in der T-NO₃-Gruppe.

Tabelle 4-21 Orale und renale Clearance von Thiamin^Σ, Mittelwert ± SD (95%-Konfidenzintervall des Mittelwertes)

Parameter	Prüfmedikation		Signifikanz
	BTMP 214 µmol p.o. (57,1 mg Thiamin)	T-NO ₃ 327 µmol p.o. (81,4 mg Thiamin)	
CL _{oral} (ml·min ⁻¹ ·1,73 m ⁻²)	481,4 ± 174,3 (356,6 ; 606,0)	4992,7 ± 5222,4 (1256,9 ; 8728,6)	p < 0,001 [†]
CL _R (ml·min ⁻¹ ·1,73 m ⁻²)	5,89 ± 6,32 (1,37 ; 10,4)	2,97 ± 5,02 (0,0 ; 6,6)	p = 0,22 [†]
Anteil der CL _R an CL _{oral} (%)	1,27 ± 1,27	0,13 ± 0,2	-

† Mann-Whitney-U-Test

4.2.5 Ergebnisse der kompartmentgebundenen pharmakokinetischen Berechnungen

4.2.5.1 Anpassungsparameter

Die nach dem beschriebenen Mehrkompartiment-Modell durchgeführten Anpassungen der individuellen Konzentrations-Zeit-Verläufe in Plasma, Blut und Erythrozyten zeigten überwiegend gute Anpassungen, wenn das Bestimmtheitsmaß (B-Wert) als Anpassungskriterium der Messreihen herangezogen wird (Tab. 4-22).

Tabelle 4-22 Bestimmtheitsmaß der linearen Regression

Prüfmedikation			
Pat.-Nr.	BTMP 214 µmol p.o.	Pat.-Nr.	T-NO ₃ 327 µmol p.o.
1	0,908	2	0,832
4	0,963	3	0,963
6	0,889	5	0,775
7	0,950	8	0,934
10	0,990	9	0,925
12	0,939	11	0,930
14	0,994	13	0,859
17	0,988	15	0,878
18	0,952	16	0,956
20	0,981	19	0,924

Die Einzelanpassungen der Datensätze sind grafisch veranschaulicht in den Abb. 4-19 und 4-20.

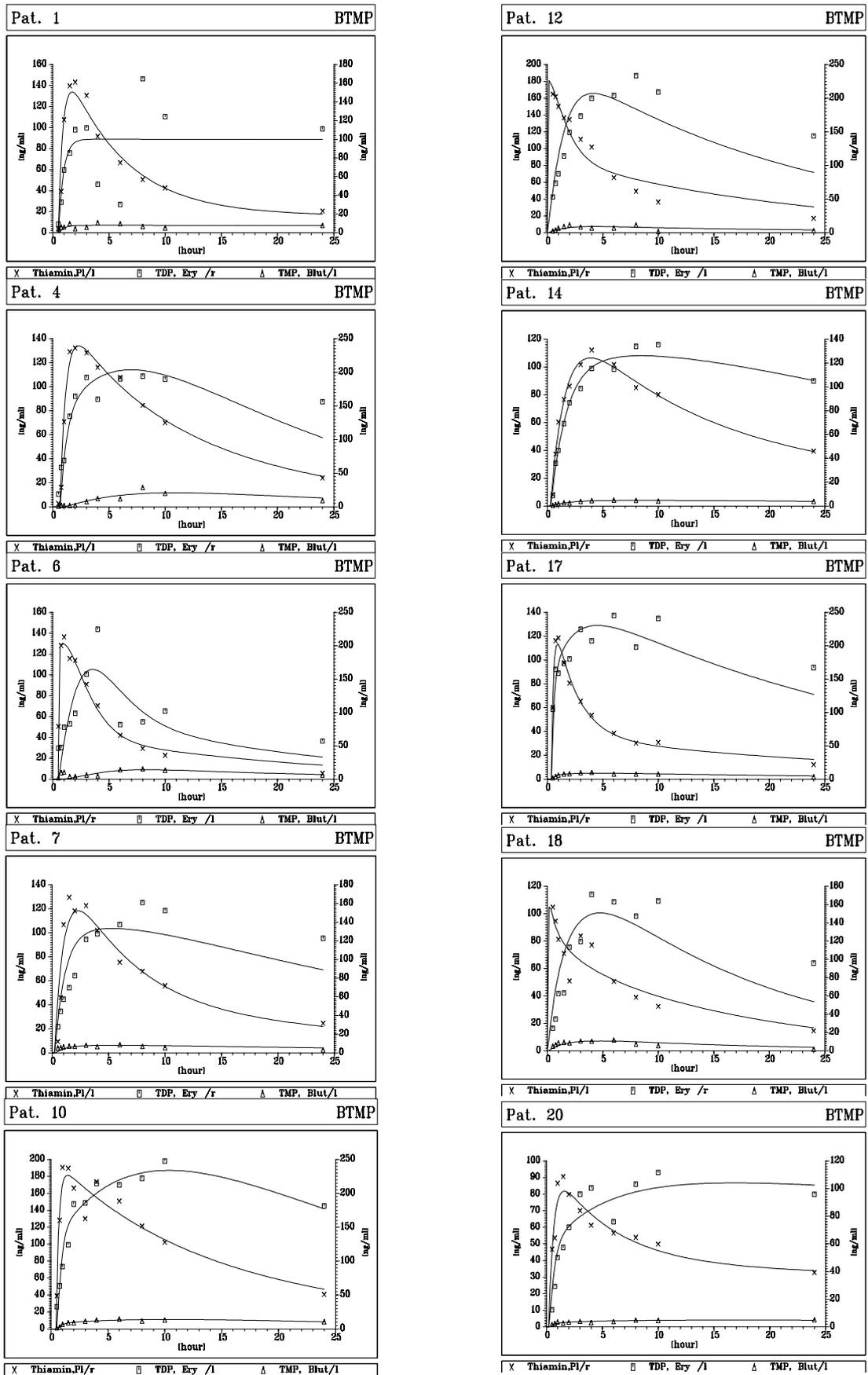


Abb. 4-19 Individuelle Anpassung der Nüchternwert-bereinigten Konzentrations-Zeit-Verläufe an das Mehrkompartiment-Modell nach Gabe von BTMP

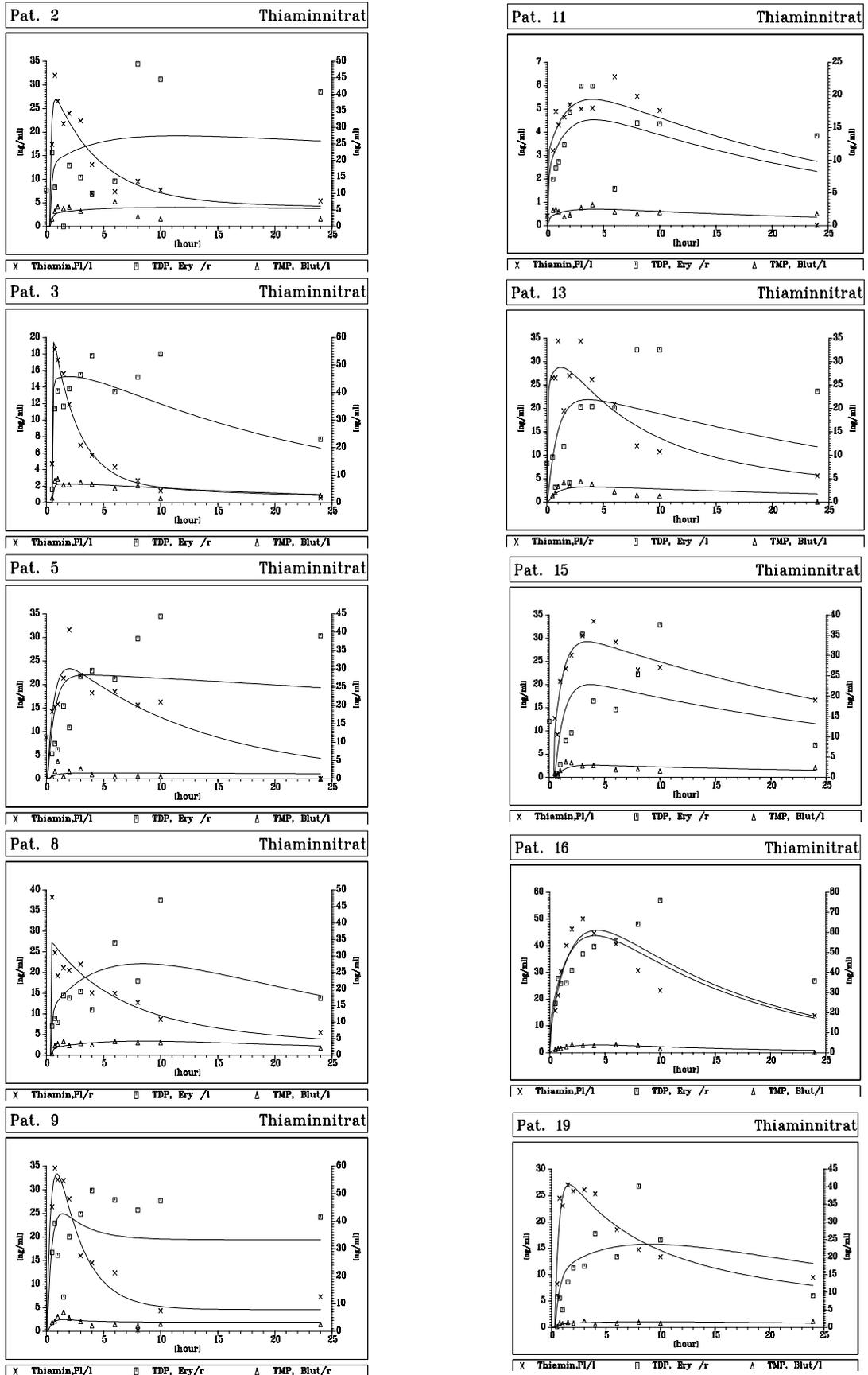


Abb. 4-20 Individuelle Anpassung der Nüchternwert-bereinigten Konzentrations-Zeit-Verläufe an das Mehrkompartiment-Modell nach Gabe von T-NO₃

4.2.5.2 Verteilungsvolumina, mittlere Verweildauer der Substanzen und AUC

Generell zeichnen sich in beiden Patientengruppen die berechneten pharmakokinetischen Parameter durch eine hohe Varianz aus. Das mittlere Verteilungsvolumen des Gesamtthiamins in der BTMP-Gruppe ist mit $25,2 \pm 17,4$ l signifikant verschieden ($p < 0,001$) von den $186,2 \pm 174,3$ l in der T-NO₃-Gruppe. Im Gruppenvergleich dagegen nicht verschieden sind die mittleren Verteilungsvolumina von TDP und TMP mit jeweils $47,7 \pm 73,6$ l bzw. 239 ± 589 l in der BTMP-Gruppe und 177 ± 328 l bzw. 683 ± 1494 l in der T-NO₃-Gruppe. Bei je einem Patient aus der BTMP- und T-NO₃-Gruppe wurden extrem große Werte für MRT und AUC ermittelt; die Daten der betreffenden Patienten (Pat.1 bzw. Pat.9) wurden anhand des Grubbs-Tests als Ausreißer identifiziert und bei der Mittelwertbildung nicht berücksichtigt. Dadurch war die mittlere MRT des Gesamtthiamins mit $36,7 \pm 61,5$ h in der BTMP-Gruppe nicht von den $30,1 \pm 36,4$ h in der T-NO₃-Gruppe verschieden. Ebenfalls nicht verschieden sind die mittleren MRT für TDP (N=9) und TMP (N=9) mit jeweils $43,5 \pm 62,9$ bzw. $44,4 \pm 62,5$ h in der BTMP-Gruppe und $47,3 \pm 45,4$ bzw. $47,7 \pm 45,4$ h in der T-NO₃-Gruppe. Die MRT liegen jeweils im Bereich hoher MRT-Werte. Die mittlere AUC des Gesamtthiamins in der BTMP-Gruppe ist mit 3264 ± 2613 ng·h/ml gegenüber der T-NO₃-Gruppe mit 554 ± 342 ng·h/ml signifikant größer ($p < 0,001$). Ebenfalls signifikant verschieden sind die AUC von TDP und TMP; diese betragen im Gruppenvergleich 6529 ± 1613 ng·h/ml bzw. 1613 ± 1382 ng·h/ml für TDP ($p < 0,001$) und 331 ± 250 ng·h/ml bzw. 148 ± 191 ng·h/ml für TMP ($p < 0,01$). Da aufgrund der großen Varianz der berechneten Parameter überwiegend keine Normalverteilung angenommen werden konnte, sind die Ergebnisse der Berechnungen in Tab. 4-23 als Median und Wertebereich zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 4-23 Verteilungsvolumina, MRT und AUC

Parameter	Plasma (Thiamin ^Σ)		Erythrozyten (TDP)		Blut (TMP)	
	Median	Wertebereich	Median	Wertebereich	Median	Wertebereich
BTMP:						
V _D (l)	24,9	6,28-53,7	3,5	0,49-183	17,2	0,05-1890
MRT (h)	19,1	8,2-1,26·10 ⁵	25,4	13,2-1,26·10 ⁵	25,5	15,9-1,26·10 ⁵
AUC _{model} (ng·h/ml)	2515	1250-2,02·10 ⁶	5530	1570-1,26·10 ⁸	249	160-880000
T-NO₃:						
V _D (l)	134	13,0-527	55,3	0,06-1070	74,9	0,03-4760
MRT (h)	20,4	5,03-62100	29,6	14,4-62100	29,6	14,4-62100
AUC _{model} (ng·h/ml)	551	97,6-285000	1180	522-2,07·10 ⁶	105	22,7-121000

4.2.5.3 System- und Massenflussparameter

Die Systemparameter im Submodell 2 (Disposition) und die Massenflussparameter, die die Verteilung zwischen den Kompartimenten widerspiegeln, unterliegen ebenfalls einer großen interindividuellen Variabilität. Die Ergebnisse sind deshalb zusammenfassend als Median mit Wertebereich in Tab. 4-24 dargestellt.

Tabelle 4-24 Systemparameter mit zugehörigen Halbwertszeiten und Massenflussparameter

Parameter	Prüfmedikation			
	BTMP 214 $\mu\text{mol p.o.}$ (57,1 mg Thiamin)		T-NO ₃ 327 $\mu\text{mol p.o.}$ (81,4 mg Thiamin)	
	Median	Wertebereich	Median	Wertebereich
$t_{\text{lag},1}$ (h)	0,32	0,001-0,645	0,185	0,001-0,491
k_a (h ⁻¹)	0,19	0,1-0,86	0,339	0,079-1,19
$t_{1/2}^\ddagger$ (h)	3,71	0,81-7,17	2,22	0,583-8,76
b_1 (S2) (h ⁻¹)	29,7	15,0-34,1	28,9	15,5-33,9
$t_{1/2}$ (h)	0,0233	0,0203-0,046	0,024	0,0205-0,0447
b_2 (S2) (h ⁻¹)	15,0	0,57-15,6	16,7	11,3-32,3
$t_{1/2}$ (h)	0,046	0,045-1,22	0,0415	0,0215-0,0613
b_3 (S2) (h ⁻¹)	1,475	0,37-4,62	7,43	1,12-15,0
$t_{1/2}$ (h)	0,485	0,15-1,87	0,0943	0,0463-0,617
b_4 (S2) (h ⁻¹)	0,0396	0,0-0,066	0,0325	0,0-0,0686
$t_{1/2}$ (h)	17,85	10,5-87500	21,65	10,1-43100
k_{23} (h ⁻¹)	1,485	0,39-15,0	2,665	0,001-15,0
k_{35} (h ⁻¹)	7,91	0,001-15,0	10,39	0,001-15,0
k_{52} (h ⁻¹)	15,0	0,184-15,0	15,0	14,9-15,0
k_{26} (h ⁻¹)	0,41	0,001-15,0	4,76	0,0266-15,0
k_{62} (h ⁻¹)	0,0563	0,001-1,74	0,00115	0,001-2,09
k_{36} (h ⁻¹)	14,9	0,001-15,0	15,0	0,001-15,0
k_{63} (h ⁻¹)	0,152	0,001-0,277	0,188	0,0155-7,64
k_{el} (h ⁻¹) †	1,05	0,001-4,29	1,023	0,001-15,0
$t_{1/2}$ (h)	0,660	693-0,162	0,678	693-0,046

‡ entspricht Absorptionshalbwertszeit; † entspricht k_{24}

Nach Verabreichung der Dosis gelangt Thiamin bzw. das aus BTMP entstehende Thiamin mit einer mittleren Verzögerungszeit von 15 ± 12 min in die systemische Zirkulation. Die mittlere Absorptionshalbwertszeit beträgt $3,19 \pm 2,3$ h und ist zwischen beiden Prüfmedikationen nicht verschieden. Thiamin wird anschließend, einer vierphasigen Eliminationsfunktion folgend, verteilt und ausgeschieden. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Präparaten bestehen dabei in der β - und γ -Phase, deren mittlere Halbwertszeiten mit $0,20 \pm 0,37$ bzw. $0,65 \pm 0,55$ h nach BTMP und $0,04 \pm 0,01$ bzw. $0,2 \pm 0,2$ h nach T-NO₃ betragen. Die berechneten Massenflussparameter sind im Gruppenvergleich nicht signifikant verschieden. Thiamin wird mit einer durchschnittlichen Geschwindigkeitskonstante von $5,07 \pm 6,2$ h⁻¹ ins Gewebe verteilt und gelangt von dort mit

$k_{62} = 0,39 \pm 0,68 \text{ h}^{-1}$ wieder langsam in die systemische Zirkulation. Die Pyrophosphorylierung geschieht mit $k_{23} = 5,33 \pm 6,2 \text{ h}^{-1}$, die Dephosphorylierung zu TMP dagegen mit $k_{35} = 8,04 \pm 7,15 \text{ h}^{-1}$. Die anschließende Dephosphorylierung zum freien Thiamin erfolgt mit $k_{52} = 13,3 \pm 4,6 \text{ h}^{-1}$. Die Verteilung des TDP ins Gewebe geschieht bemerkenswert schnell mit $k_{36} = 10,3 \pm 6,5 \text{ h}^{-1}$. Der Rückfluss ins zentrale Kompartiment ist mit $k_{63} = 0,55 \pm 1,7 \text{ h}^{-1}$ dagegen wesentlich langsamer. Die mittlere globale Eliminationskonstante beträgt $2,87 \pm 4,4 \text{ h}^{-1}$, was einer Halbwertszeit von 14,5 min entspricht. Da die Mittelwertbildung aufgrund der großen Varianz zu Verzerrungen des Ergebnisses führt, wurde für jedes Präparat die mittlere Blutspiegelkurve (N=10) der drei Metaboliten an das vorgestellte Modell angepasst und die Parameter berechnet (Tab. 4-25). Die Anpassung war mit einem B-Wert von 0,992 bei BTMP und 0,949 bei T-NO₃ gut und zeigt, dass das konzipierte Modell für die Berechnung der mittleren Werte der postabsorptiven Konzentrations-Zeit-Verläufe geeignet ist (Abb. 4-21).

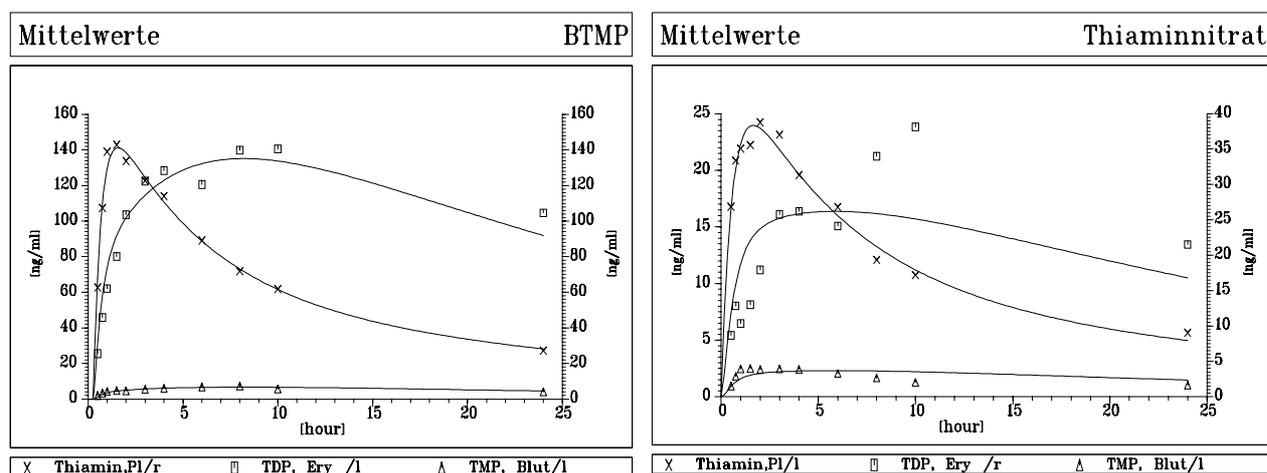


Abb. 4-21 Anpassung des mittleren Nüchternwert-bereinigten Konzentrations-Zeit-Verlaufs an das Mehrkompartiment-Modell nach Gabe von BTMP (links) bzw. Thiaminnitrat (rechts)

Tabelle 4-25 Pharmakokinetische Parameter nach Anpassung der Mittelwertkurve

Systemparameter (h ⁻¹) und Halbwertszeiten (h)												
	t _{lag, 1}	k _a	t _{1/2}	b ₁ (S2)	t _{1/2}	b ₂ (S2)	t _{1/2}	b ₃ (S2)	t _{1/2}	b ₄ (S2)	t _{1/2}	
BTMP	0,260	0,200	3,47	29,6	0,0234	15,9	0,0436	2,31	0,300	0,0362	19,1	
T-NO ₃	0,001	0,179	3,88	13,2	0,0525	13,2	0,0525	1,73	0,402	0,0361	19,2	
Massenflussparameter (h ⁻¹)												
	k ₂₃	k ₃₅	k ₅₂	k ₂₆	k ₆₂	k ₃₆	k ₆₃	k _{el}	t _{1/2}			
BTMP	0,773	15,0	15,0	1,05	0,001	15,0	0,194	0,898	0,77			
T-NO ₃	1,24	3,77	15,0	0,234	0,0095	6,92	0,229	0,758	0,91			
Verteilungsvolumina (l), MRT (h) und AUC _{model} (ng·h/ml)												
	Thiamin ^Σ			TMP			TDP					
	V _D	MRT	AUC	V _D	MRT	AUC	V _D	MRT	AUC			
BTMP	28,0	17,8	2270	29,3	26,0	263	1,45	25,9	5310			
T-NO ₃	265	17,0	405	111	24,9	87,8	38,6	24,8	1000			

Mit Hilfe der iterativ berechneten Parameter konnte im TOPFIT-Simulationsmodus der Konzentrations-Zeit-Verlauf des Gesamthiamins im Gewebe-Kompartiment simuliert werden (Abb. 4-22). Dazu muss P_0 als fixer Parameter festgelegt werden. Da aber das Ausmaß der Plasma- und Gewebekombindung unbekannt ist, wird im vorliegenden Fall willkürlich angenommen, dass das scheinbare Verteilungsvolumen von Thiamin den realen Verteilungsraum des Gesamtkörperwassers nicht übersteigt, d.h. $V_D = 0,6 \text{ l/kg}$. Dadurch lässt sich zwar letztlich über die reale absolute Höhe der Gewebekonzentration keine Aussage treffen, der Zeitpunkt der maximalen Konzentration bleibt jedoch gleich. Hiernach ist der Konzentrationsanstieg zwar langsamer als im Blut aber die Verlaufsform unterscheidet sich nicht grundsätzlich zwischen beiden Präparaten; die maximalen Gewebekonzentrationen werden nach 11,3 h (BTMP) und 12 h ($T\text{-NO}_3$) erreicht. Damit ist im Modell das Konzentrationsmaximum im Gewebe gegenüber dem im Plasma und in den Erythrozyten um 9,8 bzw. 3,3 h (BTMP) und um 10,4 bzw. 6 h ($T\text{-NO}_3$) zeitlich verzögert.

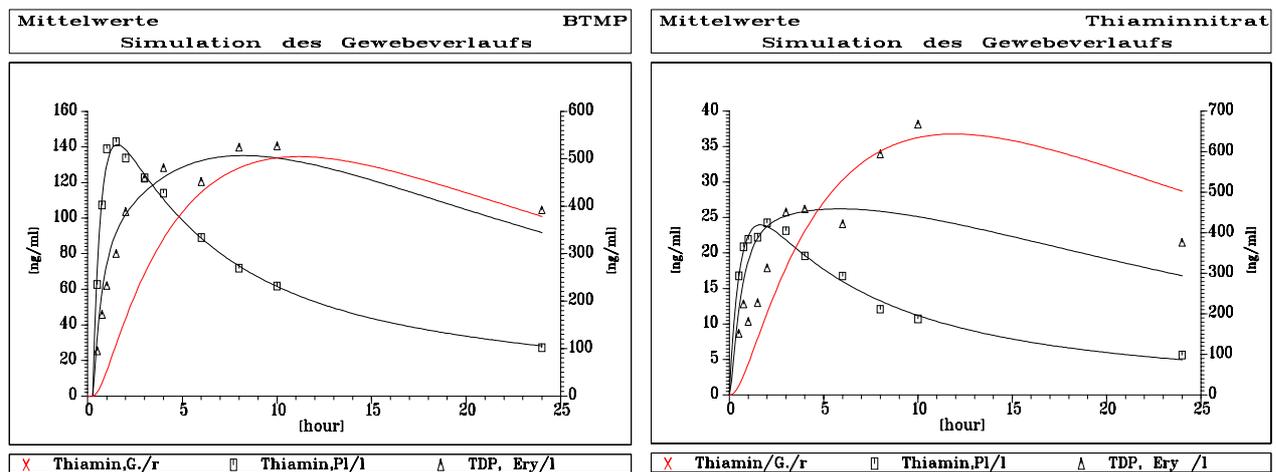


Abb. 4-22 Fiktiver Konzentrations-Zeit-Verlauf im Gewebe bei Annahme von $V_D = 0,6 \text{ l/kg}$

4.3 Diskussion

Vorrangiges Ziel dieser Studie war es, die Bioverfügbarkeit von oral appliziertem BTMP gegenüber $T\text{-NO}_3$ in Form von handelsüblichen Präparaten an einem großen Kollektiv niereninsuffizienter Patienten zu testen. Als Nebenziel wurde *post-hoc*, d.h. bei entsprechend guter Eignung der Daten, festgelegt, dass mit einem geeigneten Metaboliten-Modell die komplexe Verteilungs- und Phosphorylierungsdynamik des Thiamins unter den Bedingungen der Urämie abgebildet werden sollte.

Der **gewählte Versuchsaufbau** sollte weitestgehend eine Widerspiegelung des Klinikalltags und somit die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf reale Verhältnisse gewährleisten. Den Patienten wurde daher gestattet, ca. 1 Stunde nach Versuchsbeginn - *ad libitum* unter Beachtung der individuellen diätetischen Restriktionen - ein Frühstück einzunehmen; fast alle nutzten auch die Möglichkeit zur

Teilnahme an der Mittagsverpflegung des Krankenhauses. Die Analyse der 7-Tage-Ernährungsprotokolle ergab in der Woche vor der Studiendurchführung eine durchschnittliche Thiaminzufuhr von $1,39 \pm 0,41$ mg; die Thiaminzufuhr am Tag der Probennahme selbst war mit $1,38 \pm 0,66$ mg davon nicht signifikant verschieden. Die Werte entsprechen der durchschnittlichen Thiaminzufuhr von 1,32 mg bei Gesunden (Heseker et al., 1994). Bei pharmakokinetischen Studien mit Vitaminen sollten zur Verringerung der Gesamtvarianz normalerweise die tieferen Kompartimente, die in langsamem Austausch mit dem zentralen Kompartiment stehen, aufgefüllt sein, so dass abweichende Verteilungsvorgänge aufgrund einer Mangelsituation verhindert werden (Zemle ni und Kübler, 1995). So führte Ziems (1997) eine 10tägige Vorversuchsphase durch, innerhalb der die Thiaminkonzentrationen der Versuchsteilnehmer durch orale Gabe von täglich 2 mg T-NO₃ äquilibriert wurden. Die gleichbleibend hohe Thiaminzufuhr der niereninsuffizienten Patienten über eine längere Zeit und der durchschnittliche Aktivierungskoeffizient der Transketolase, der mit $1,11 \pm 0,06$ dem von Gesunden mit 1,10 (Heseker et al., 1992) entsprach, schlossen einen mangelhaften Versorgungszustand weitgehend aus und rechtfertigten diesen Mehraufwand in vorliegender Studie nicht. Die engen Grenzen der Einschlusskriterien sorgten dafür, dass die durch anthropometrische Gegebenheiten (Größe, Gewicht) bedingte Varianz die durch den unterschiedlichen Krankheitszustand bedingte nicht vergrößerte. Da sich kein Einfluss des Geschlechts auf irgendeine Variable statistisch sichern ließ, konnten die Frauen in die Auswertung einbezogen werden, wodurch es wiederum möglich war, den Stichprobenumfang zu vergrößern. Angesichts der Tatsache, dass die meisten Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Thiamin oder BTMP mit gesunden, jungen Probanden durchgeführt wurden, stellt sich die Frage, inwieweit das höhere Lebensalter der Patienten in dieser Studie einen Einfluss auf die Ergebnisse hatte. Es ist bekannt, dass mit höherem Lebensalter bei Gesunden an sich schon Veränderungen der Pharmakokinetik von vorwiegend renal eliminierten Arzneimitteln im Sinne einer höheren Variabilität auftreten (Fliser et al., 1999). Es ist aber unbekannt, ob dies als Ergebnis extrarenaler oder renaler Degeneration zu werten ist oder nur die unterschiedliche Rate des physiologischen Nierenfunktionsverlustes mit höherem Alter widerspiegelt (Fliser et al., 1999). Die Beziehungen zwischen dem Alterungsprozess und der Art und Weise, wie der ältere Mensch auf Arzneimittel reagiert, stellen sich hierbei als äußerst komplex dar und sind teilweise noch wenig erforscht. Insbesondere sind die unterschiedlichen Auswirkungen des Alters auf den *in-vivo*-Stoffwechsel, d.h. die variable Reduktion der Arzneimittel-Clearance, der intestinale Metabolismus und seine Bedeutung im Alter, die zunehmende Gebrechlichkeit als der Hauptindex des veränderten Arzneimittelstoffwechsels, das Ausmaß der Induzierbarkeit/Hemmung metabolisierender Enzyme, d.h. Einfluss von Umweltfaktoren auf die Pharmakokinetik bei älteren Menschen und der Einfluss ethnischer Faktoren unbekannt (Kinirons und Crome, 1997). Neue Untersuchungen zeigen allerdings, dass die wahre GFR beim gesunden älteren Menschen innerhalb des normalen

Referenzbereiches bleibt und durch den Gebrauch der Kreatinin-Clearance und mehr noch deren Surrogatparameter (Cockroft-Gault-Clearance) eher unterschätzt wird (Fliser et al., 1999). Parallel dazu ist die Pharmakokinetik renal eliminiertes Arzneimittel beim gesunden älteren Menschen nicht zu einem klinisch signifikanten Ausmaß verändert, so dass lediglich für Arzneistoffe mit einer engen therapeutischen Breite (was für Thiamin nicht zutrifft) gefordert wird, eine Überdosierung durch Dosisanpassung zu vermeiden (Fliser et al., 1999). Somit dürfte der gewählte Versuchsansatz einen weitestgehend isolierten Einfluss der Krankheit gewährleisten, wenn zusätzlich bedacht wird, dass chronische Nierenerkrankungen ohnehin untrennbar mit einem höheren Lebensalter assoziiert sind, wie epidemiologische Befunde zeigen (Berthoux et al., 1998).

Die für die beiden Studien (s. auch Abschnitt 6) **validierte und leistungsfähige HPLC-Methode** zur Bestimmung von TTP, TDP, TMP und Thiamin in verschiedenen biologischen Matrices (Blut, Plasma, Urin, Liquor) zeichnet sich durch sehr gute Validierungsdaten aus und eignet sich daher aufgrund ihrer Praktikabilität und der selektiven und spezifischen Erfassung der Phosphatester für den Einsatz bei pharmakokinetischen Fragestellungen. Dies gilt auch für die Messung der ETK, für deren Gebrauch langjährige Erfahrungen bestehen. Die ermittelten Basiswerte im Blut stimmen mit den Werten bei Gesunden (alle mittels HPLC bestimmt) gut überein (Tab. 4-26).

Tabelle 4-26 Vergleich der Thiamin-Basiswerte im Blut (ng/ml)

Probanden	Thiamin	TMP	TDP	TTP	Thiamin ^Σ	Referenz
ESRD-Pat.	5,4	2,5	52,7	<1,4	43,5	diese Studie
Gesunde	1,9	3,6	61,8	n.b.	43,2	Ziems, 1997
Gesunde	1,1	1,4	51,0	<2,0	34,2	Brunnekreeft et al., 1989
Gesunde	8,9	3,8	70,2	<1,0	55,8	Tallaksen et al., 1991

Ein Vergleich der **Thiamin^Σ-Verlaufskurven** mit Gesunden, denen jeweils unterschiedliche Dosen BTMP bzw. T-NO₃/T-HCl gegeben wurde (Abb. 4-23), zeigt, dass bei ESRD-Patienten nach Gabe von BTMP der Blutspiegel ebenfalls stark ansteigt, jedoch um den Zeitpunkt der maximalen Konzentration ein Plateau aufweist. Die Verlaufskurve bei Ziems (1997) zeigt eine ungleichmäßige Elimination, was darauf zurückzuführen ist, dass nach hohen Dosen aus dem zirkulierenden BTMP und SBT weiterhin Thiamin nachgeliefert wird. Dieser Effekt lässt sich bei niedrigeren Dosen anhand der Verlaufskurven nicht ablesen. Der Thiamin^Σ-Spiegel steigt bei den ESRD-Patienten ähnlich rapide an wie bei den Gesunden, erreicht jedoch bei gleicher Dosis sehr viel höhere absolute Konzentrationen und sinkt nur langsam wieder ab. Dies ist ein erster Hinweis auf die stärkere Retention infolge des fehlenden renalen Überlaufeffektes.

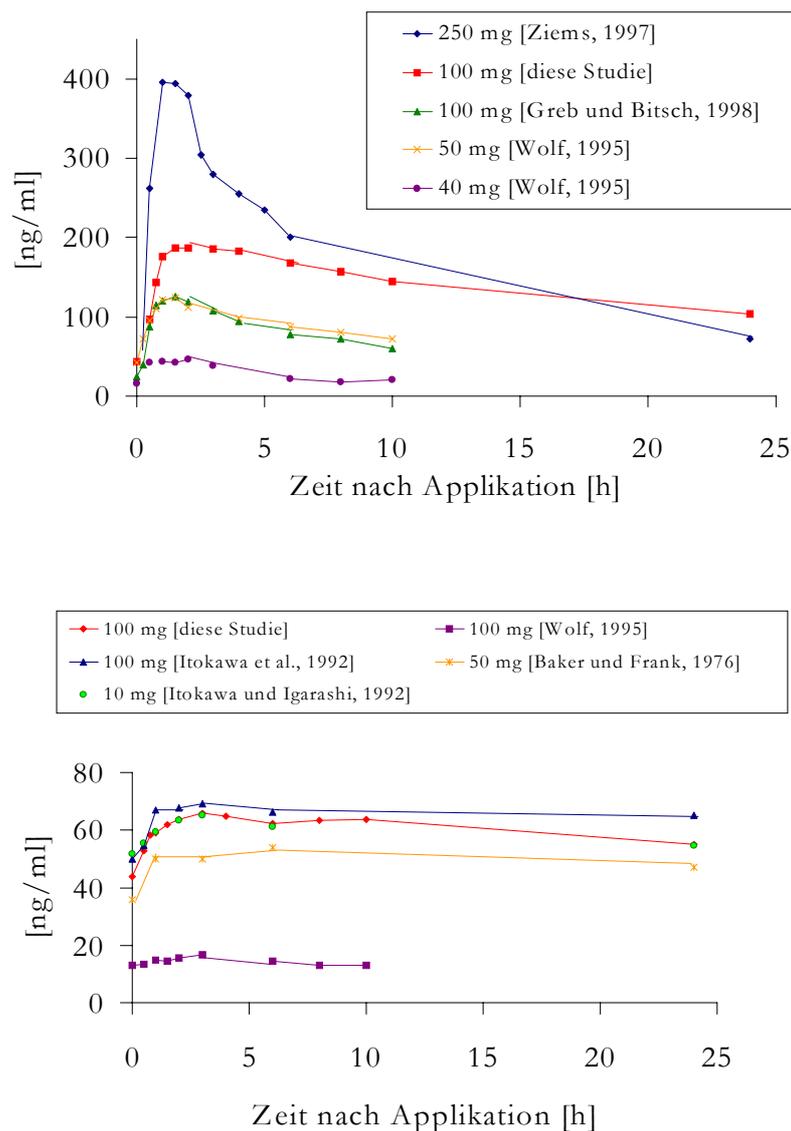


Abb. 4-23 Studienvergleich der Thiamin^Σ-Konzentration im Blut nach oraler Gabe von BTMP (oben) und Thiaminsalzen (unten)

Die Thiamin^Σ-Verlaufskurve nach T-NO₃ reiht sich in die Ergebnisse anderer Studien mit wasserlöslichen Thiaminverbindungen ein: die limitierte Resorptionskapazität führt nur zu einem begrenzten Ausmaß der Konzentrationserhöhung. Ein Vergleich der abgeleiteten pharmakokinetischen Kenngrößen AUC, C_{max} und t_{max} in Plasma und Blut mit Literaturdaten bestätigt die hinreichend bekannten Unterschiede zwischen lipid- und wasserlöslichen Thiaminderivaten (z.B. Übersicht in Loew, 1996). Lediglich bei der C_{max} von Thiamin^Σ im Vollblut der Patienten fällt auf, dass diese im Vergleich zu Gesunden später erreicht wird, und zwar sowohl nach Gabe von lipid- als auch wasserlöslichen Derivaten. Eine einfache Erklärung hierfür liegt in der Tatsache, dass die Verlaufskurve von Thiamin^Σ die Resultierende zweier parallel ablaufender Prozesse ist: auf die rasche Invasion

freien Thiamins in die systemische Zirkulation folgt die zeitlich verzögerte Pyrophosphorylierung. Diese führt, wie nachfolgend erläutert wird, bei den ESRD-Patienten im Vergleich zu Gesunden zu höheren TDP-Konzentrationen, was wiederum die postabsorptive Thiamin^Σ-Konzentration wesentlich mehr beeinflusst.

Die **AUC**, die definitionsgemäß die Bedeutung eines Proportionalitätsfaktors zwischen Dosis und Clearance hat (Gl. 4.6), kann als Maß der in den zentralen Kreislauf eingetretenen Substanzmenge betrachtet werden. Die dosisproportionale Resorption des BTMP kann deshalb über die in einem Koordinatensystem gegen die Dosis aufgetragene AUC verdeutlicht werden (Abb. 4-24). Für die Veranschaulichung wurde, da die meisten bisher durchgeführten Untersuchungen nur einen Beobachtungszeitraum von 0 bis 10 Stunden umfassten, anhand der Urdaten die AUC von 0-10 h im Blut nachberechnet.

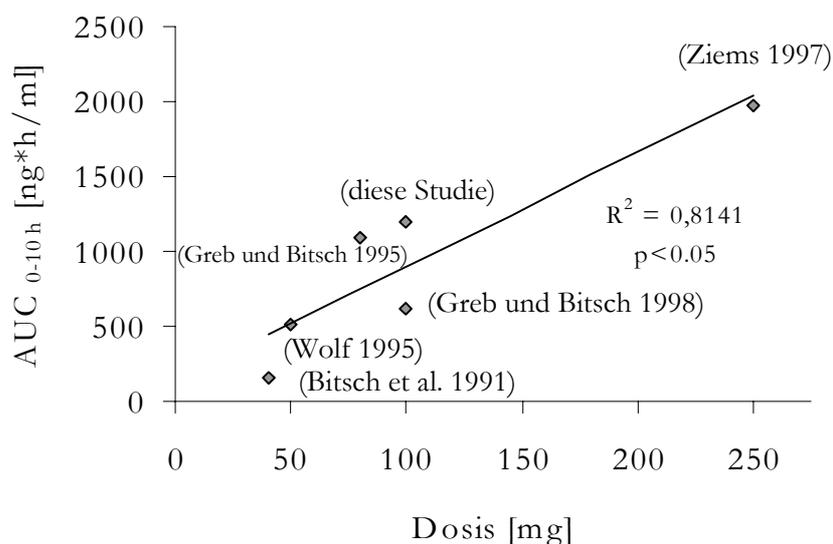


Abb. 4-24 Dosisproportionale Resorption des BTMP anhand der AUC von Thiamin^Σ im Blut

Abb. 4-24 verdeutlicht eine bestehende Korrelation der Blutspiegelkurven und zeigt darüber hinaus, dass bei urämischen Patienten keine Resorptionseinschränkungen bestehen.

Nur wenige Autoren haben nach der Applikation von Thiamin den postabsorptiven Konzentrations-Zeit-Verlauf der Phosphatester bestimmt, um Effekte auf das Verteilungsmuster zu bestimmen. Beim Vergleich mit den gesunden Probanden in der Studie von Ziems (1997) fällt auf, dass die **postabsorptive TDP-Konzentration** bei Patienten mit ESRD nach Gabe von BTMP höher aus-

fällt als bei Gesunden, die eine 2,5fache Dosis bekamen (Abb. 4-25). Bemerkenswert ist weiterhin, dass der Konzentrations-Zeit-Verlauf von TDP bei den Patienten einen bimodalen Verlauf mit einem zweiten Maximum nach acht bis zehn Stunden hat. Dieses Phänomen kann mit einiger Regelmäßigkeit nicht nur bei jedem Patienten beobachtet werden, sondern tritt auch nach der Applikation des wasserlöslichen T-NO₃ auf (vgl. Abb. 4-19 und 4-20). Normalerweise ist dieser Verlauf ein Hinweis auf ein enterohepatisches Recycling oder eine verzögerte Resorption, wobei zwischen beiden Prozessen anhand der Blutspiegelkurve allein keine Unterscheidung getroffen werden kann, da beide in zwei oder mehreren Maxima resultieren. Allerdings müsste dann auch der Konzentrations-Zeit-Verlauf im Plasma und der postabsorptive TMP-Spiegel, der mit den TDP-Konzentrationen zusammenhängt, betroffen sein, was offensichtlich nicht der Fall ist. Es können daher nur spekulative Gründe zur Erklärung genannt werden. Da der zweite Peak unmittelbar nach dem Mittagessen erreicht wird, ist ein Einfluss der Nahrungsaufnahme auf die Bioverfügbarkeit nicht auszuschließen. Ziems (1997) beobachtete kein zweites TDP-Maximum, da sie mangels weiterer Blutentnahmen zwischen sechs und 24 Stunden nach Applikation ihren Blutspiegelverlauf nur interpolieren konnte.

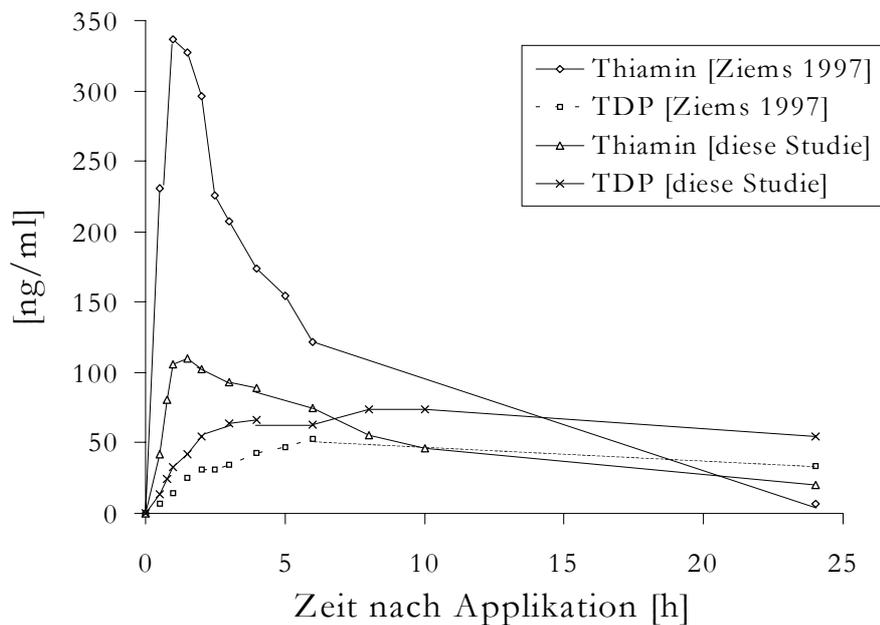


Abb. 4-25 Bildung von TDP nach Gabe von BTMP bei ESRD-Patienten im Vergleich zu Gesunden

TDP entsteht durch die Phosphorylierung des Thiamins bei dessen Eintritt in die Zelle und dient dort als intrazellulärer Speicher. Dieser Prozess ist reversibel, so dass eine Hydrolyse über TMP zu Thiamin parallel stattfindet (vgl. 2.1.2). Der postabsorptive Konzentrationsverlauf von TMP widerspiegelt damit das Ausmaß der erreichten TDP-Konzentration. Beleg dafür ist der Befund, dass die

AUC von TMP mit 263 ng·h/ml der von Ziems (1997) mit 268 ng·h/ml angegebenen entspricht, und entsprechend geringer war die AUC bei den ESRD-Patienten, die T-NO₃ bekamen. Die Beteiligung enzymatischer Reaktionen und die intrazelluläre Proteinbindung des Coenzym TDP hätten zur Folge, dass die Phosphorylierung zu TDP mit steigender Substratkonzentration (Thiamin) sättigbar ist. Der obige Vergleich zeigt aber, dass eine Sättigung der Kinase nicht angenommen werden kann.

Tab. 4-27 unterstreicht diese Beobachtung, indem aus den in der Literatur erhältlichen Daten mittels linearer Trapezregel kompartiment-unabhängige Parameter berechnet und verglichen wurden. Im Vollblut der Patienten ist die AUC_{TDP} nach BTMP durchschnittlich 4,2mal größer als nach Einnahme der gleichen Dosis T-NO₃. Bei den gesunden Probanden jedoch, die eine 2,5fach höhere Dosis BTMP bekamen, erreichte die AUC_{TDP} nur 65% des Wertes bei den Patienten. Auch das Ausmaß des maximalen postabsorptiven Konzentrationsanstiegs ist bei den Patienten um 52% höher. Da TDP fast ausschließlich in den Erythrozyten lokalisiert ist, sind die Ergebnisse des Vergleichs in erster Linie nicht Ausdruck einfacher Konzentrations-/Dosiseffekte, etwa bedingt durch eine relativ verminderte Aufnahme unphysiologisch hoher Dosen, sondern Indizien einer beschleunigten Diffusion an Zellgrenzflächen (Membranen) gegenüber wasserlöslichen Thiaminsalzen. Sie führt zu einer wesentlich höheren Bioverfügbarkeit des BTMP, womit auch eine höhere Phosphorylierung zum TDP verbunden ist.

Tabelle 4-27 Pharmakokinetische Parameter von TDP im Blut nach Gabe von Thiaminpräparaten bei Gesunden und ESRD-Patienten (Mittelwert und 95%-Konfidenzintervall)

Referenz	Präparat (Dosis)	AUC (ng·h/ml)	C _{max} (ng/ml) [‡]	t _{max} (h)
diese Studie	BTMP (100 mg)	1491,2 (1141–1840)^a	81,9 (66–97)^a	7,6 (6–9)^a
diese Studie	T-NO ₃ (100 mg)	355,1 (260–450)^b	21,3 (17–26)^b	8,3 (6–10)^a
Ziems, 1997	BTMP (250 mg)	974,3 (709–1239) ^c	54,2 (38–70) ^c	5,2 (4–6) ^a
Tallaksen et al., 1993b	T-HCl (50 mg) [†]	460,8 (262–660) ^b	57,4 (31–84) ^{a,c}	7,7 (5–10) ^b
Tallaksen et al., 1993b	T-HCl (50 mg)	355,8 (10–702) ^b	26,8 (6–47) ^{b,c}	18,2 (8–28) ^c

AUC und C_{max}: ^a versus ^b: p<0,001, ^a versus ^c: p<0,05, ^b versus ^c: p<0,01; t_{max}: ^a versus ^b: p<0,05, ^a versus ^c: p<0,05, ^b versus ^c: p<0,05, berechnet mittels Kruskal-Wallis H-Test und paarweisem Mann-Whitney U-Test für Mehrfachvergleiche

[†] i.v., sonst p.o., [‡] relativer Anstieg

Körpereigene Substanzen, zu denen das BTMP mit seinen „Pro-Drug“-Eigenschaften zählt, lösen nach ihrer Applikation Regulationsphänomene aus, deren Bewältigung stoffwechselabhängig ist (Kübler, 1989). Wenn der Grad der Debenzoylierung des BTMP als Regulationsprozess des Organismus angesehen wird, bestimmen interindividuelle Faktoren, wie die Konzentration reduzierender Substanzen (SH-haltige Substanzen wie Cystein, Glutathion), die allgemeine Stoffwechsellage und die Blutzusammensetzung das Ausmaß der Bioverfügbarkeit zusätzlich (Ziems, 1997). Bei Patienten mit ESRD, bei denen regelmäßig eine Hyperhomocysteinämie diagnostiziert werden kann (Bostom

et al., 1995, Bostom und Lathrop, 1997, Bostom et al., 1996), ergibt sich somit ein wesentlich größeres Potenzial für eine bessere Bioverfügbarkeit von BTMP, wie Tab. 4-27 zeigt.

Über die **Ausscheidungsmenge im 24-h-Urin** kann bei den urämischen Patienten, im Unterschied zu Gesunden, nicht auf die resorbierte Menge geschlossen werden. Bei den gesunden Versuchspersonen in Ziems (1997) war nach ca. 6 Stunden die maximale Thiaminausscheidung (19,5 mg) abgeschlossen, wobei insgesamt 19,4% der Dosis im 24-h-Urin ausgeschieden wurden. Dies stimmt mit dem bei Wada et al. (1961) berichteten Wertebereich der Thiaminausscheidung nach oraler Gabe von BTMP überein, der bei gesunder Nierenfunktion zwischen 21 und 34% der gegebenen Dosis betrug. Nach 100 mg BTMP p.o. bestimmten Greb und Bitsch (1998) bei Gesunden eine 24-h-Harnausscheidung von 6,8 mg, was 11,9% der verabreichten Dosis entspricht. Die Thiaminausscheidung nach oraler Gabe von wasserlöslichem Thiamin im Dosis-Bereich zwischen 10 und 100 mg betrug, bezogen auf die verabreichte Dosis, 2,3% (Itokawa et al., 1992), 3,0% (Itokawa und Igarashi, 1992), 2,8% (Baker und Frank, 1976) und 2,5% (Tallaksen et al., 1993b). Selbst nach Gabe von 5 g T-HCl p.o. wurden nur 4,8% im Urin wiedergefunden (Bötticher et al., 1985). Bei den ESRD-Patienten mit Restdiurese dagegen wurden ca. 1% nach BTMP bzw. 0,08% nach T-NO₃ im Urin wiedergefunden. Dies führte konsequenterweise zu dem niedrigen Anteil der berechneten renalen Clearance an der oralen (1,27% bzw. 0,13%) und verdeutlicht, dass die **metabolische Clearance**, d.h. die Elimination des Thiamins über die Biotransformation, der bedeutendste Mechanismus bei Urämie ist. Da die berechneten Angaben in dieser Studie auf unkorrigierten Urinwerten beruhen, sind sie eher als Schätzwerte zu interpretieren. Korrekterweise wird vor der eigentlichen Hauptmehlsammelperiode eine Vorsammelperiode durchgeführt, die zur Ermittlung der individuellen basalen Thiaminausscheidung dient, die wiederum von der postabsorptiven Ausscheidungsmenge als Nullwert abzuziehen ist. Aus praktischen Gründen (unregelmäßige wöchentliche Miktionen) und aufgrund des hohen Anteils anurischer Patienten wurde aber auf diese Vorgehensweise verzichtet. Ziems (1997) bestimmte als Einzige das prä- und postabsorptive Ausscheidungsverhältnis von TMP und Thiamin im Urin. Sie beobachtete, dass sich das Thiamin/TMP-Verhältnis nach Applikation vergrößerte. Die hohe Ausscheidung von freiem Thiamin am Belastungstag war in erster Linie auf die erhöhten Thiaminkonzentrationen im Blut zurückzuführen, während die Menge phosphorylierten Thiamins im Urin relativ unbeeinflusst blieb, was wiederum seine Entsprechung in den nur wenig veränderten postabsorptiven TMP-Blutspiegeln hatte. Normalerweise erscheint TMP nur wenig oder überhaupt nicht im Urin als Zeichen der tubulären Reabsorption zum Schutz vor renalen Thiaminverlusten (Weber, 1991). Die Menge an ausgeschiedenem TMP kann daher als Indikator eines ausreichenden Versorgungszustands gewertet werden. In diesem Sinne ist die TMP-Ausscheidung in vorliegender Studie, deren absolute Höhe zwar extrem gering aber zwischen beiden Präparaten nicht signifikant verschieden war, als Ausdruck einer guten Verfügbarkeit zu werten.

Die Thiaminderivate können durch die Bestimmung der **kurzfristigen in-vitro-Aktivierbarkeit der ETK** auf ihre Bioverfügbarkeit unter einem mehr funktionellen Gesichtspunkt verglichen werden (vgl. 2.4.2). So bemerkten Bitsch et al. (1991) nach Gabe von 40 mg BTMP eine 15%ige, nach Gabe von 100 mg T-NO₃ eine 6%ige Erhöhung der Aktivität nach 10 Stunden, die jedoch jeweils keine Signifikanz erreichte. Signifikant dagegen war die Verringerung von α -ETK nach BTMP, nicht jedoch nach T-NO₃. Greb und Bitsch (1998) dagegen wiesen bereits nach 8 Stunden eine um 24% signifikant erhöhte ETKA nach, wenn 100 mg BTMP verabreicht wurden, α -ETK blieb jedoch unverändert. Überhaupt keine Wirkung, weder auf die ETKA noch auf α -ETK, hatte die orale Applikation von 80 mg BTMP bei Alkoholikern, obwohl die pharmakokinetischen Parameter für eine höhere Bioverfügbarkeit im Vergleich zu Gesunden sprachen (Greb und Bitsch, 1995). In der vorliegenden Studie ließ sich jeweils eine 8,5%ige Erhöhung der ETKA *und* eine Verbesserung von α -ETK nachweisen, die jedoch nur für die absolute Aktivität statistische Signifikanz erreichte. Obwohl die ETKA tatsächlich einen funktionellen Aspekt widerspiegelt, der darin besteht, ein Maß zu sein für die Coenzym sättigung des Apoenzyms, besitzen die erythrozytären Enzyme eine beträchtliche Überkapazität, d.h. Veränderungen ihres Funktionszustandes treten schon innerhalb des „normalen“ Wertebereichs auf, der sonst allgemein nicht auf eine funktionelle Veränderung hinweist (van den Berg, 1997). Eine erhöhte ETKA, zusammen mit einem erniedrigten *in-vitro*-Stimulations-Verhältnis (α -ETK), ist damit nicht notwendig mit einem höheren Flux durch den Pentosephosphatzyklus verbunden (van den Berg, 1997). Zusätzlich sind vom Thiaminstatus unabhängige Faktoren zu berücksichtigen, die die ETKA beeinflussen und so zu einer hohen interindividuellen Variabilität beitragen (Herve et al., 1995): die Existenz verschiedener Apoenzymvarianten mit unterschiedlicher Affinität für TDP (genetischer Polymorphismus), das mittlere Alter der Erythrozyten, chronischer Alkoholabusus und urämische Toxine, um nur einige zu nennen. Sowohl Individuen als auch Gewebe unterscheiden sich in der Sensitivität auf die Thiaminzufuhr (Anonym, 2000b). Diese Faktoren, die Ausdruck der biologischen Variabilität sind, müssen beim Vergleich der verschiedenen, in der Literatur mitgeteilten Befunde zur **Korrelation** zwischen dem **TDP-Gehalt** in den Erythrozyten und der **ETKA** berücksichtigt werden. Warnock et al. (1978) beobachteten eine signifikante Korrelation zwischen der erythrozytären TDP-Konzentration und der ETKA ($r = 0,6$) bei 11 gesunden Männern. Auch bei Takeuchi et al. (1990) korrelierte die TDP-Konzentration mit der ETKA ($r = 0,88$). Baines und Davies (1988) fanden überdies eine bessere Korrelation zwischen dem TDP-Gehalt und der ETKA als zwischen dem TDP-Gehalt und α -ETK. Saito et al. (1987) beobachteten außerdem signifikante Korrelationen zwischen dem Gesamthiamingehalt im Vollblut und der ETKA ($r = 0,97$) bzw. α -ETK ($r = -0,525$) bei 46 ambulant behandelten Diabetikern. Im Gegensatz zu vorliegender Studie fanden Pietrzak und Baczyk (1997) Korrelationen zwischen dem Gesamt-

protein im Serum und der ETKA sowie zwischen dem Hämoglobingehalt und der ETKA bei ESRD-Patienten. Die fehlende Korrelation in vorliegender Studie ist darauf zurückzuführen, dass es infolge der Erkrankung zu einer nicht erklärbaren Erhöhung der Gesamtvarianz kam (vgl. 5.3). Wenn z. B. durch den Einfluss niedermolekularer urämischer Toxine der Apoenzymmangel schwerer ist als der des Coenzyms, kann das *in-vitro*-Stimulations-Verhältnis den Thiaminstatus nicht korrekt widerspiegeln. Auch die bei den Patienten zu erwartende langfristige Absättigung des Apoenzyms durch vorhergehende Supplementierungsphasen hatte einen Einfluss auf das Ergebnis (Rizzo, 1969). Die Absättigung wird verstärkt durch die Blockade der renalen Eliminationsfähigkeit, wie an den höheren Plasmakonzentrationen freien Thiamins zu sehen ist (Rizzo, 1969, Tab. 4-26). Ein Nachteil ist, dass in vorliegender Studie keine Kontrollgruppe untersucht wurde, so dass die Beziehung der ETKA zum Grad der Niereninsuffizienz nicht überprüft werden konnte. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung stehen gleichwohl im Einklang mit der fehlenden Korrelation zwischen dem erythrozytären TDP-Gehalt und der ETKA bzw. α -ETK, die bei Jugendlichen beobachtet wurde (Bailey et al., 1994). Bailey et al. (1994) geben zu bedenken, dass neben der biologischen vor allem die analytische Variabilität von entweder einem der beiden oder gar beider Parameter des Thiaminstatus dafür verantwortlich ist. Vor allem scheint die im Vergleich zu HPLC-Messungen höhere analytische Variabilität der ETKA-Messung ausschlaggebend zu sein. Bei der Beurteilung der Ergebnisse muss außerdem berücksichtigt werden, dass bei verminderter Thiaminzufuhr schon dann eine Verminderung der erythrozytären TDP-Konzentration gemessen werden kann, wenn die ETKA noch unverändert ist (Warnock et al., 1978). Erst bei exzessiv niedriger Zufuhr sinkt die ETKA. Die Bestimmung der ETKA wird daher, im Vergleich zu HPLC-Messungen des erythrozytären TDP-Gehaltes als weniger sensitiver Index für den Versorgungszustand, insbesondere bei pathologischen Bedingungen, angesehen.

Der übliche Weg bei Bioverfügbarkeitsuntersuchungen ist, den Anteil einer oralen Dosis zu bestimmen, der die zentrale Zirkulation erreicht. Bei Vitaminen muss man dabei jedoch die physiologisch im Plasma vorhandene Konzentration berücksichtigen sowie die Mechanismen, die die intestinale Resorption und die Verteilung zwischen Funktions- und Speicherkompartimenten in Abhängigkeit vom Bedarf bestimmen. Der Austausch zwischen diesen Kompartimenten hat erheblichen Einfluss sowohl auf die Invasion dieser Stoffe in das Plasmakompartiment als auch auf die Plasmaclearance (Schümann et al., 1997). Die Bestimmung der AUC im Plasma nach oraler Aufnahme ist daher allein kein geeigneter Parameter, weil er den Einfluss homöostatischer Regelmechanismen auf die Plasmakonzentration nicht berücksichtigt. Die Inkorporation eines **Metaboliten-Modells** (Mehrkompartment-Modell) zur Beschreibung der Pharmakokinetik ist hier sinnvoll. Sie ist vor allem bei solchen Wirkstoffen nötig, die überwiegend durch Biotransformation eliminiert

werden (Heinzel et al., 1993). Die hauptsächliche pharmakologische Wirkung des Thiamins hängt mit der Metabolisierung zu Phosphateestern zusammen, die wiederum nicht nur als Biotransformation, sondern auch als Verteilung zwischen Funktions- und Speicherkompartimenten aufgefasst werden kann. Die Metabolisierung zu Phosphateestern ist bei oligurischen/anurischen Verhältnissen als bevorzugter Eliminationsmechanismus des Thiamins zu erwarten. Die Kompartiment-Struktur von Metaboliten-Modellen in TOPFIT besteht immer aus der Kombination eines Input-Teils mit einem Dispositions-Teil (Submodelle). Ziems (1997) setzte erstmals ein Metaboliten-Modell zur Beschreibung der Pharmakokinetik des BTMP ein. Sie bestimmte neben den Thiaminphosphateestern im Blut auch BTMP selbst und dessen ersten Metaboliten SBT und führte deswegen in ihr Modell mehrere Dispositionsräume ein. Da in der vorliegenden Arbeit nur die Thiaminphosphatester betrachtet wurden, ist nur ein Submodell für die Disposition eingeführt worden, mit dem die Verteilung von Thiamin hinreichend beschrieben werden konnte. Dadurch vereinfachte sich die Beschreibung der Disposition erheblich. Voraussetzung dafür bildete die Annahme, dass das BTMP während der Passage durch die Mukosa sofort debenzoyliert wird und hauptsächlich als Thiamin in die systemische Zirkulation gelangt, was durch die phänomenologische Bewertung des Konzentrations-Zeit-Verlaufs von Thiamin gestützt wird. Diese Vorgehensweise ermöglicht es auch, die Pharmakokinetik des lipophilen und wasserlöslichen Präparates mit nur einem Modell zu beschreiben, wodurch die Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet ist.

Das gewählte pharmakokinetische Modell ist nur eines von mehreren möglichen Modellen, die denkbar sind. Bei deren Formulierung ist zu berücksichtigen, dass sie immer die wesentlichsten Interaktionen zwischen den Phosphateestern, möglichst auch unter Berücksichtigung physiologischer Körper-Kompartimente, d.h. realitätsnah, abbilden können (Tallaksen et al., 1993b). Das Bestimmtheitsmaß (B-Wert) als Maß zur Beschreibung der linearen Regressionsfunktionen, ist dabei ein Auswahlkriterium. Im Unterschied zu Ziems (1997), die in ihrem Modell nur das Vollblut- und Urin-Kompartiment betrachtete, wurden in dieser Studie die TDP-Konzentrationen in den Erythrozyten an den Term eines peripheren (Gewebe-) Kompartiments, die Thiaminkonzentrationen im Plasma dagegen an den Term für das zentrale Kompartiment angepasst. Die Urindaten wurden außer Acht gelassen aufgrund der dargestellten Schwierigkeiten bei der Harnsammlung und daraus resultierender Ungenauigkeiten. Durch die bei Restdiurese auftretende Nykturie lagen oft nur ein bis zwei Messwerte im Urin gegen Ende des Versuchszeitraumes vor, d.h. die Summenkurve der Thiaminausscheidung war nicht sigmoid sondern eher linear. Dies führte folgerichtig bei der Extrapolation der postapplikativ ausgeschiedenen Menge gegen unendlich dazu, dass die Ausscheidung die Dosis weit übertraf. Die Eliminationskonstante k_{el} ist deshalb als Summenparameter aller Prozesse, die zur Entfernung von Thiamin aus dem Organismus führen, zu interpretieren. Ohne die Urindaten erbrachte sowohl die Iteration der Individualdaten als auch die der Mittelwerte immer noch eine gute

Anpassung mit $B=0,992$ für BTMP und $B=0,949$ für T-NO₃, eine bessere Anpassung konnte nicht erzielt werden. Dieser Befund sprach zusammen mit der Phänomenologie der Verlaufskurven (Abb. 4-19 bis 4-21) für die Annahme des Modells.

Die **Systemparameter** beschreiben die Disposition/Elimination des Thiamins tetraphasisch. Hierin unterscheidet sich das gewählte Modell von den Literaturbefunden (vgl. Tab. 2-3), wonach die Elimination maximal triphasisch ist. Dieser triphasische Verlauf lässt sich in der Regel nur bei einer Dauerinfusion und einem Beobachtungszeitraum von mindestens 48 Stunden feststellen (Hagen, 1991). Bei oralen „single-dose“-Studien lässt sich die Elimination hinreichend genau in Form eines biphasischen Verlaufs beschreiben (z.B. Kitamori und Itokawa, 1993). Da für die korrekte Ermittlung der terminalen Eliminationsphase ein minimaler Beobachtungszeitraum von mindestens $3 \times$ MRT nach Applikation gefordert wird, was in vorliegendem Fall ca. 51 Stunden entspricht, ist davon auszugehen, dass der reale terminale Verlauf nicht gemessen wurde. *Die Systemparameter dienen lediglich dazu, in expliziter Weise die Modellfunktion des linearen Kompartiment-Modells zu beschreiben.* Im Gruppenvergleich ergaben sich lediglich für die β - und γ -Phase signifikante Unterschiede. Diese Differenz bedeutet zunächst, dass unterschiedliche Eliminationsmechanismen bei hohen und niedrigen Thiaminkonzentrationen wirken (Weber et al., 1990). Für die Berechnung nach selbstdefinierten Mehrkompartiment-Modellen in TOPFIT gilt jedoch, dass in erster Linie die **Massenflussparameter** das Modell hinreichend definieren, da sie die vom Benutzer angestrebte Verteilung zwischen den Kompartimenten mathematisch beschreiben (Heinzel et al., 1993). In ihrer Eigenschaft als Geschwindigkeitskonstanten geben die Massenflussparameter auch die Metabolisierung einer Substanz unter Entstehung einer anderen Substanz wieder, da die Kinetik der Elimination einer Substanz die Kinetik der Bildung einer anderen Substanz bestimmt (Bildung von TDP). Hier ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Testpräparaten. Somit muss die Verteilung von Thiamin nach der Applikation lipophiler oder wasserlöslicher Derivate mit gleicher Gesetzmäßigkeit erfolgen, d.h. die berechneten Parameter sind nicht dosisabhängig, wie auch die Untersuchungen von Kitamori und Itokawa (1993) belegen (vgl. 2.1.4). Aufgrund der großen interindividuellen Variabilität führt die Mittelwertbildung zu Verzerrungen, so dass im Folgenden auf die Parameter der Mittelwertanpassung Bezug genommen wird. Bemerkenswert ist die hohe Geschwindigkeitskonstante der Pyrophosphorylierung von Thiamin mit $0,77 \text{ h}^{-1}$ (BTMP) und $1,24 \text{ h}^{-1}$ (T-NO₃). Ziems (1997) ermittelte hierfür bei Gesunden nur $0,001 \text{ h}^{-1}$. Normalerweise ist der intrazelluläre Einschluss von TDP bei niedrigen Plasmakonzentrationen als Schutzmechanismus anzusehen, der durch Herabsetzen der Membranpermeabilität Thiaminverluste verhindern soll. Der gute Versorgungszustand der Patienten zeigt jedoch, dass beim niereninsuffizienten Patient die Entstehung des TDP in erster Linie der schnellen Wiederherstellung des Steady-State des Blutspiegels dient. Recht hoch sind auch die Ge-

schwindigkeitskonstanten für die Dephosphorylierung von TDP zu TMP und weiter zum freien Thiamin. Ziems (1997) ermittelte in dieser Reihenfolge Werte von $1,24 \text{ h}^{-1}$ und $14,9 \text{ h}^{-1}$. Diese Werte sind Ausdruck des hohen Thiaminumsatzes und verdeutlichen den dynamischen Aspekt, der sich mit der Abhängigkeit des postabsorptiven TMP-Spiegels von der TDP-Konzentration verbindet. Ziems (1997) berechnete, dass TDP mit $14,9 \text{ h}^{-1}$ ins Gewebe und von dort mit $0,74 \text{ h}^{-1}$ langsam wieder in das zentrale Kompartiment gelangt. Auch bei den ESRD-Patienten wird TDP mit $15,0 \text{ h}^{-1}$ ins Gewebe verteilt, während der Rückfluss aus dem Gewebe mit $0,19 \text{ h}^{-1}$ wesentlich langsamer erfolgt. Nach T-NO₃ findet ebenfalls eine vergleichsweise hohe Verteilung von TDP statt ($k_{36} = 6,9 \text{ h}^{-1}$) mit einem ähnlich schnellen Rückfluss in das zentrale Kompartiment. Diese Befunde zeigen, dass TDP nach Gabe von BTMP im Gewebe wesentlich stärker retiniert wird als nach Gabe wasserlöslicher Thiaminsalze. Die Retention von Thiamin ist aber bei den niereninsuffizienten Patienten infolge der blockierten Ausscheidungsfähigkeit insgesamt als wesentlich nachhaltiger einzuschätzen, und zwar sowohl nach Gabe von BTMP als auch von T-NO₃. Möglicherweise liegt hierin auch die Erklärung dafür, dass eine signifikante Verbesserung der ETKA bei den Patienten auch mit T-NO₃ erreicht werden konnte. Für die Verteilung des freien Thiamins ins Gewebe ermittelte Ziems (1997) $k = 12,3 \text{ h}^{-1}$, für den Rückfluss ins zentrale Kompartiment $8,8 \text{ h}^{-1}$. Dies entspricht einem Verhältnis von 2,5:1 zwischen Hin- und Rückfluss. Aus dem zentralen Kompartiment wird Thiamin mit $14,9 \text{ h}^{-1}$ eliminiert. Dies ist Ausdruck des hohen Thiaminumsatzes und veranschaulicht die Dynamik des renalen Überlaufeffektes bei Gesunden, wenn hohe Dosen BTMP gegeben werden. Bei den Patienten erfolgte die Verteilung von Thiamin ins Gewebe mit $1,05 \text{ h}^{-1}$ nach BTMP bzw. $0,23 \text{ h}^{-1}$ nach T-NO₃. Die entsprechenden Rückflussraten waren $0,001 \text{ h}^{-1}$ bzw. $0,009 \text{ h}^{-1}$. Anschließend erfolgte die Elimination mit $0,89 \text{ h}^{-1}$ bzw. $0,76 \text{ h}^{-1}$. Das Verhältnis von Hin- zu Rückfluss betrug damit bei den Patienten 1000:1 nach BTMP und 26:1 nach T-NO₃. Das zeigt eindeutig, dass einerseits Thiamin bei den niereninsuffizienten Patienten sofort vom Gewebe aufgenommen, hier retiniert und metabolisiert wird und andererseits, dass, verglichen mit Gesunden, dem Gewebekompartiment eine wesentlich größere Bedeutung bei der Elimination des Thiamins beigemessen werden muss, als dem Plasma-/Urinkompartiment (vgl. Abb. 4-22!). Die obigen Befunde sind letztlich auch dazu geeignet, die Differenz zwischen der oralen und renalen Clearance zu erklären und verdeutlichen, dass sich der Schwerpunkt zu nicht-renalen Clearance-Prozessen verlagert. Ziems (1997) ermittelte für die **MRT** von Thiamin 4,7 h, während bei den Patienten in dieser Untersuchung die MRT 17 h (T-NO₃) bzw. 17,8 h (BTMP) betrug. Da die MRT umgekehrt proportional zur durchschnittlichen Eliminationskonstante ist, spiegelt sich hier v.a. die reduzierte renale Ausscheidungsfähigkeit der Patienten wider. Die MRT für TDP und TMP sind bei Gesunden und Patienten jeweils vergleichbar hoch, was mit den lang anhaltenden TDP-Konzentrationen zusammenhängt. Das scheinbare **Verteilungsvolumen** von Thiamin im Plasma bei den Patienten übersteigt mit 28 l

(0,38 l/kg) nach BTMP das Plasmavolumen (0,04 l/kg) erheblich, während $V_D = 265$ l (3,4 l/kg) nach T-NO₃ auch das Volumen des Gesamtkörperwassers übersteigt, d.h. es findet eine Gewebenaufnahme und sofortige Verteilung statt. Ziems (1997) ermittelte 9,7 l, Tallaksen et al. (1993b) 8,2 l, Weber et al. (1990) 9,9 l (0,24 l/kg) und Royer-Morrot et al. (1992) 37100 l. Definitionsgemäß ist das Verteilungsvolumen ein Proportionalitätsfaktor zwischen der absorbierten Dosisfraktion und seiner Plasmakonzentration. Rückschlüsse auf das reale Verteilungsvolumen lassen sich grundsätzlich nur bei Kenntnis von Plasma- und Gewebekombination ziehen (Fichtl et al., 1996). Ein Vergleich der Verteilungsvolumina wird zusätzlich dadurch erschwert, dass die Definition nicht ganz eindeutig ist. Die Größe von V_D hängt davon ab, zu welchem Zeitpunkt und unter welchen Bedingungen der Quotient aus Menge und Plasmakonzentration gemessen wird (Fichtl et al., 1996). Wenn eine bestimmte Dosis i.v. appliziert wird, befindet sich die gesamte Menge zunächst im Plasma, d.h. das initiale Verteilungsvolumen ist niedrig. Nach Abschluss der Verteilungsphase ist das Verteilungsvolumen dagegen höher. Aufgrund des Hybridcharakters der Halbwertszeit ergibt sich $V_D = t_{1/2}/\ln 2 \times CL$, d.h. je größer V_D , desto länger die Halbwertszeit. Die Unterschiede in den Verteilungsvolumina in der vorliegenden Studie ergeben sich also zunächst infolge der unterschiedlichen Eliminationsleistung und Halbwertszeit der beiden Prüfpräparate. Zu beachten ist weiterhin, dass das Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments bei extravasaler Applikation immer auch den unbekanntem Bioverfügbarkeitsfaktor f (Wertebereich zwischen 0 und 1) einschließt, so dass das Verteilungsvolumen im Sinne von V_D/f zu interpretieren ist.

Entgegen der Überlegung (vgl. 2.3.2) zeigen die Ergebnisse, dass trotz der terminalen Niereninsuffizienz eine Störung in der Interaktion der Thiaminphosphorsäureester nicht vorliegt. Als Kompensationsmechanismus der blockierten renalen Elimination reagiert der niereninsuffiziente Patient nach oraler Gabe von BTMP mit einem hohen Umfang und einer hohen Transferrate von Thiamin in TDP; auch die Anwendung wasserlöslicher Thiaminsalze bringt bei dieser Patientengruppe in dieser Hinsicht Vorteile. Unverträglichkeitsreaktionen traten bei BTMP nicht auf, da die entstehende Benzoesäure sofort metabolisiert wird. Im Ergebnis dieser Arbeit konnten wichtige biokinetische Daten für Thiamin (Verteilungskonstanten und -halbwertszeit) erhoben werden, die für diesen Nährstoff beim Menschen bisher nur lückenhaft vorhanden sind, gerade zur Charakterisierung des metabolischen Verhaltens im therapeutischen Bereich aber eine große Relevanz besitzen.

5 Bioverfügbarkeit von Thiamin bei verschiedenen Nierenersatztherapien

5.1 Material und Methoden

5.1.1 Studiendesign

Bei der Studie handelte es sich um eine unizentrische Gruppenvergleichsstudie mit einzelnen longitudinalen Abschnitten.

5.1.1.1 Patientenauswahl

In die Studie aufgenommen wurden 14 Patienten (3 Frauen, 11 Männer) mit chronischer Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention (CRF), 19 Patienten (5 Frauen, 14 Männer) im Zustand nach Nierentransplantation (RT) und 24 Patienten (10 Frauen, 14 Männer) mit Hämodialysebehandlung (DP) des Universitätsklinikums, Klinik für Innere Medizin IV bzw. des Kuratoriums für Dialyse und Nierentransplantation e.V. (KfH), Zentrum Jena. Die Einschlusskriterien der CRF-Patienten waren eine GFR < 60 ml/min und Scr > 300 µmol/l (vgl. zusammenfassende Übersicht in Tab. 5-1, Einzelwerte: s. Anhang).

Tabelle 5-1 Anthropometrische Charakteristika und klinische Daten der Studienteilnehmer, Median (Wertebereich)[†]

Parameter	CRF (N=14)	RT (N=19)	DP (N=24)
Alter (Jahre)	53 (33-71)	50 (28-63)	53 (21-75)
Body Mass Index (kg/m ²)	24,6 (21,0-29,3)	24,2 (18,6-29,9)	23,5 (17,3-30,2)
Serum-Harnstoff (mmol/l)	25,7 (14,2-33,1)	7,1 (5,1-17,5)	26,0 (19,0-41,0)
Serum-Kreatinin (µmol/l)	507,5 (222,0-901,0)	116,0 (75,0-255,0)	941,0 (556,0-1343,7)
Serum-Protein (g/l)	68,3 (60,1-77,0)	68,1 (46,9-78,7)	68,5 (56,0-78,0)
Serum-Albumin (g/l)	41,1 (32,6-45,7)	41,6 (29,4-50,6)	45,9 (28,5-63,3)
Hämatokrit	0,34 (0,25-0,43)	0,44 (0,35-0,56)	0,30 (0,21-0,41)
Hämoglobin (mmol/l)	7,1 (5,3-11,4)	9,1 (6,9-11,7)	6,5 (4,6-8,6)
RR _{systolisch} (mm Hg)	140,0 (120,0-180,0)	140,0 (100,0-170,0)	130,0 (90,0-160,0)
RR _{diastolisch} (mm Hg)	90,0 (80,0-110,0)	90,0 (70,0-120,0)	80,0 (60,0-110,0)

[†] Referenzwerte vgl. Tab. 4-2

5.1.1.2 Aufklärung, Einwilligung und Votum der Ethikkommission

Die Patienten erhielten in der Reihenfolge ihrer Einwilligung eine Patientenummer. Vor Beginn der klinischen Prüfung wurden die Patienten über Wesen und Bedeutung der Studie aufgeklärt. Inhalt der Aufklärung war weiterhin die Information des Patienten über die anonymisierte Verarbeitung der erhobenen Daten unter Beachtung des Datenschutzes. Die Aufklärung durch den Prüfarzt erfolgte in schriftlicher und mündlicher Form im Rahmen eines Aufklärungsgesprächs. Die Studie wurde von der unabhängigen Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität genehmigt.

5.1.1.3 Einzelverlauf der klinischen Studie

Nach erfolgter Aufklärung und Einwilligung des Patienten wurden die nachstehenden Parameter einen Tag vor Durchführung der Untersuchungen im Patienten-Prüfbogen protokolliert: Patientennummer, anthropometrische Daten (Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht), renale Diagnose, Dauer der Niereninsuffizienz, Zeit nach Transplantation, Dauer der Dialysepflicht und Häufigkeit der Dialysebehandlungen pro Woche, Art des verwendeten Dialysators, Angaben zum Dialysegerät (Blut- und Dialysatflussrate, Menge des verwendeten Dialysats, Beginn der Dialyse), Art und Dauer der Vitamin-Supplementierung, Art und Häufigkeit der Alkoholaufnahme, Rauchgewohnheiten, Blutdruck und weitere klinische Labordaten (Scr, Harnstoff, Albumin, Hämatokrit etc.). Bei den un-supplementierten CRF- und RT-Patienten wurde einmal Blut entnommen und eine 24-h-Harnsammlung gemäß dem Schema in Abb. 5-1 (obere Hälfte) durchgeführt.

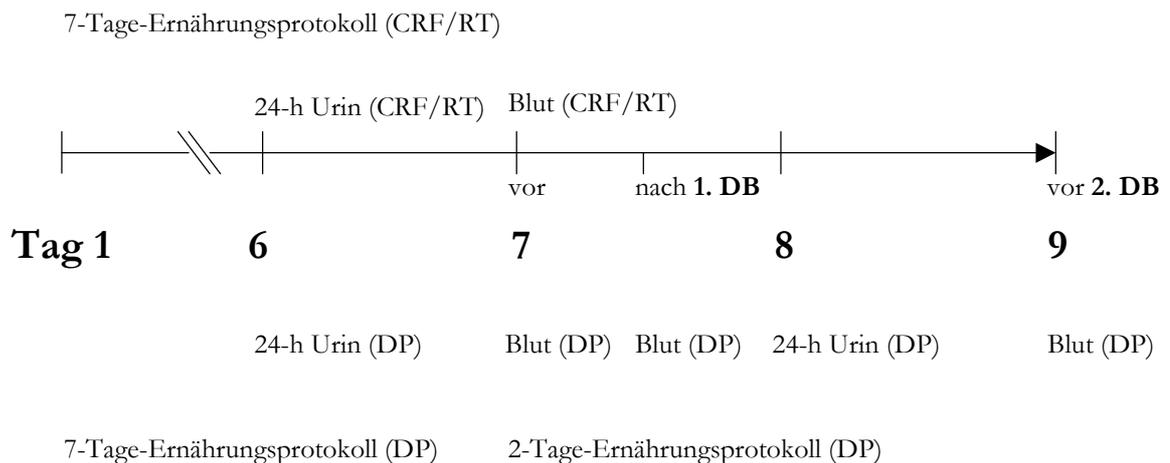


Abb. 5-1 Studiendesign (Bedeutung der Abk.: CRF = chronisch nierensuffiziente Patienten mit kompensierter Retention, RT = Patienten nach Nierentransplantation, DP = Hämodialysepatienten, DB = Dialysebehandlung)

Die Dialysepatienten wurden entsprechend der Höhe der Thiaminsupplementierung in zwei Gruppen eingeteilt: Gruppe 1 (N=15) erhielt zu den Behandlungsterminen (dreimal wöchentlich) eine orale Thiaminsupplementierung in Höhe von 1,5 mg aus dem Vitaminpräparat „Ren-O-Vit[®]“, Gruppe 2 (N=9) erhielt mit gleicher Frequenz eine orale Thiaminsupplementierung in Höhe von 8,0 mg aus dem Vitaminpräparat „Dreisavit[®]“⁴ (Gry-Pharma, Kirchzarten). Bei den supplementier-

⁴ Ersetzt seit Okt. 1995 „Ren-O-Vit“.

ten Dialysepatienten wurde dreimal Blut entnommen: unmittelbar vor Beginn und nach Beendigung der Dialyse sowie vor Beginn der nächsten Dialyse (Abb. 5-1, untere Hälfte). Nach einer Unterbrechung der Vitaminsupplementierung für 14 Tage wurden nach diesem Schema bei den Dialysepatienten (N=24) erneut drei Blutentnahmen vorgenommen. Sowohl in der Phase der Supplementierung als auch 14 Tage danach wurde bei allen Dialysepatienten jeweils vor der ersten und zweiten Dialysebehandlung eine 24-h-Harnsammlung durchgeführt. Die Art und Dosis der verwendeten Vitaminpräparate in der Supplementierungsphase wurde im Prüfbogen genau dokumentiert. Der Prüfarzt achtete darauf, dass der Zeitpunkt der Einnahme unmittelbar nach Beendigung der Dialysebehandlung und Probenentnahme eingehalten wurde. Die genaue Zusammensetzung der Vitaminpräparate ist dem Anhang zu entnehmen.

Die Blutentnahme erfolgte nach nächtlicher Nahrungskarenz morgens zwischen 8.00 und 10.00 Uhr durch den behandelnden Arzt. Die Zeiten der letzten Lebensmittel- und Getränkeaufnahme, die Menge und Zeit des Alkoholkonsums am Vortag, die Medikamenteneinnahme und die Rauchgewohnheiten wurden vor der Blutentnahme im Prüfbogen protokolliert. Nach einer Ruhezeit von 10 min erfolgte bei den CRF- und RT-Patienten die Entnahme von 20 ml venösem Blut aus der *Vena mediana cubiti* in heparinisierte Monovetten in liegender Position. Bei den Dialysepatienten hingegen erfolgte die Blutentnahme aus dem arterio-venösen Shunt. Eine Stauung erfolgte nur kurz zum Legen der Kanüle. Mit der Blutentnahme wurde erst 5-10 s nach Lockerung der Stauung begonnen. Das Plasma wurde durch Zentrifugation bei 3500 min^{-1} gewonnen, ein Aliquot von 1,5 ml wurde gemäß der Arbeitsvorschrift (s. Anhang) für die Lagerung bis zur Analyse bei -80°C vorbereitet. Die verbleibenden Erythrozyten wurden nach der Arbeitsvorschrift (s. Anhang) zur Bestimmung des Aktivierungskoeffizienten der erythrozytären Transketolase (α -ETK) aufbereitet und bis zur Analyse bei -80°C aufbewahrt. Vom 24-h-Urin wurde das Gesamtvolumen ermittelt und 100 ml als Probe entnommen. Hiervon wurde wiederum ein Aliquot von 2 ml mit 2 ml HCl (0,1 N) versetzt und bei -80°C bis zur Analyse eingefroren.

5.1.2 Analytische Methoden

Entsprechend den in Kap. 1, Abschnitt 2.4 dargestellten Überlegungen erfolgte die Quantifizierung des Gesamtthiamins im Plasma und Urin unter Verwendung einer modifizierten HPLC-Methode mit Nachsäulenderivatisierung zum Thiochrom (Ohta et al., 1984). Zur enzymatischen Dephosphorylierung der Thiaminphosphatester wurden die Plasmaproteine nach dem Auftauen am Analysentag mit Trichloressigsäure präzipitiert und nach Einstellen des pH-Wertes auf 4,5 mit 5%iger Clara-Diastase-Lösung versetzt. Anschließend wurden die Proben bei 45°C im Wasserbad 16 Stunden lang inkubiert. Danach wurden die Proben zentrifugiert und der Überstand für die HPLC-Analyse verwendet. Die Detektion erfolgte fluorimetrisch bei einer Anregungswellenlänge von 375 nm und

einer Emissionswellenlänge von 435 nm. Die Quantifizierung des Gesamtthiamins (= Thiamin^Σ) erfolgte anhand der Peakfläche mit Hilfe der externen Standardkalibrierung. Die Bestimmung von α -ETK erfolgte wie unter 4.1.2.2 beschrieben. Die übrigen klinisch-chemischen Laborparameter wurden im Rahmen der klinischen Routinediagnostik gewonnen.

Die Patienten erfassten gemäß dem Schema in Abb. 5-1 prospektiv ihren Verzehr mittels Schätzprotokollen, d.h. der laufende Verzehr von Lebensmitteln wurde in haushaltsüblichen Maßen notiert. Vor Beginn der Verzehrserhebung wurden die Patienten durch geschultes Erhebungspersonal umfassend eingewiesen. Die protokollierten Lebensmittel wurden im Anschluss an die Erhebungsphase mit Hilfe des Softwarepakets EBIS 2.1 (Januar 1995, FEP - Forschungszentrum für Ernährung in Prävention und Therapie gGmbH, Hohenheim) kodiert und über die in EBIS verfügbaren Portionsgrößen in Gramm-Mengen umgerechnet. Unter Verwendung der EBIS zugrundeliegenden Nährstoffdatenbank Bundeslebensmittelschlüssel (BLS, Version II.2) des Bundesinstituts für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) konnte die durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffzufuhr kalkuliert werden. Eine Besonderheit des BLS im Vergleich zu anderen Nährwerttabellen besteht darin, dass im Falle nicht vorhandener Analysenwerte für zahlreiche, insbesondere zusammengesetzte Lebensmittel eine Berechnung oder Abschätzung dieser Werte nach definierten Regeln erfolgte (BgVV, 1996). Dadurch entstehen zwar Fehler, eine Unterschätzung der tatsächlichen Nährstoffaufnahme wird jedoch vermieden.

5.1.3 Statistische Methoden

Die deskriptive Statistik umfasste Mittelwert, Standardabweichung, Median und Wertebereich. Grundsätzlich erfolgte vor Beginn der explorativen Datenanalyse die Überprüfung aller in Frage kommenden Variablen auf Normalverteilung unter Verwendung des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstests. Die Gleichheit der Fehlervarianzen wurde mit dem Levene-Test geprüft. Innerhalb jeder Patientengruppe wurde der Einfluss der festen Faktoren Alter, Geschlecht, und Serumkreatinin (Scr) als Parameter des Nierenfunktionsgrades auf die abhängigen Variablen Thiamin^Σ-Gehalt im Plasma, α -ETK und Thiaminausscheidung im Urin mittels einfach-mehrfaktorieller (univariater) Varianzanalyse ohne Messwiederholung (UNIANOVA) überprüft. Die Faktoren Alter und Scr besaßen folgende Abstufungen: Altersbereich 20-40 Jahre, 41-60 Jahre und > 60 Jahre; Scr < 107, 107-1061 und > 1061 $\mu\text{mol/l}$. Die Durchführung der UNIANOVA basierte auf der Prozedur GLM-UNIVARIAT (UNIANOVA mittels General Linear Model = allgemeines lineares Modell). Im GLM werden alle Effekte gleichzeitig betrachtet. Die Thiaminzufuhr mit der Nahrung diente als Kovariate. Die Modellspezifikation bestand neben der Berechnung der Haupteffekte auch in der Berücksichtigung von Wechselwirkungen zwischen den Faktoren (gesättigtes Modell). Der Gruppenver-

gleich der Statusparameter erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) mit anschließendem Mehrfachvergleich unter Verwendung des Bonferroni-Tests. Der Bonferroni-Test auf Grundlage der studentisierten T-Statistik korrigiert das beobachtete Signifikanzniveau unter Berücksichtigung der Tatsache, dass multiple Vergleiche vorgenommen werden. Bei den Dialysepatienten erfolgte zusätzlich die Überprüfung des Einflusses des Probenentnahmezeitpunktes (= Innersubjektfaktor) auf die Thiaminstatusparameter anhand der univariaten Varianzanalyse mit Messwiederholung, basierend auf dem GLM. Als Zwischensubjektfaktoren wurden dabei zusätzlich die Dialysat- und Blutflussrate, die Dauer und Frequenz der Einzelbehandlung sowie die Molekülausschlussgrenze der verwendeten Membran berücksichtigt. Die univariate Varianzanalyse mit Messwiederholung wurde für jeden Zwischensubjektfaktor einzeln durchgeführt, d.h. die übrigen Zwischensubjektfaktoren wurden nicht beachtet. Kennzahlen zur Analyse von Zusammenhängen wurden als Korrelationsmaße berechnet, d.h. als Maßkorrelationskoeffizient r im Falle normalverteilter Variablen oder als Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman bei nicht-normalverteilten Variablen.

Die Erstellung von Histogrammen, Boxplots, Streudiagrammen sowie alle genannten statistischen Berechnungen erfolgten mit SPSS für Windows™, Release 10.0.5 (November 1999, SPSS Inc., Chicago).

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Thiaminstatus in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Grad der Niereninsuffizienz

Alter, Geschlecht und durchschnittliche Thiaminzufuhr hatten bei den CRF-Patienten im Stadium der kompensierten Retention keinen Einfluss auf die Indikatoren des Thiaminversorgungszustandes (Tab. 5-2 und 5-3).

Tabelle 5-2 Thiaminstatus in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Thiaminaufnahme bei CRF-Patienten im Stadium der kompensierten Retention

Alter (Jahre)‡	Geschlecht	Thiamin ^Σ im Plasma (ng/ml) $\bar{x} \pm SD$ (N)	α -ETK $\bar{x} \pm SD$ (N)	Thiamin ^Σ im 24-h-Urin (μ g) $\bar{x} \pm SD$ (N)
20-50	männlich	23,8 \pm 4,6 (4)	1,14 \pm 0,10 (4)	63,4 \pm 35,3 (4)
	gesamt	23,8 \pm 4,6 (4)	1,14 \pm 0,10 (4)	63,4 \pm 35,3 (4)
> 50	männlich	22,0 \pm 4,6 (6)	1,18 \pm 0,10 (6)	61,2 \pm 21,6 (7)
	weiblich	18,0 \pm 3,1 (3)	1,25 \pm 0,10 (3)	7,2 \pm 6,2 (3)
	gesamt	20,7 \pm 4,1 (9)	1,20 \pm 0,10 (9)	45,0 \pm 22,2 (10)
Gesamt	männlich	22,7 \pm 4,4 (10)	1,16 \pm 0,09 (10)	62,0 \pm 25,6 (11)
	weiblich	18,0 \pm 3,1 (3)	1,25 \pm 0,10 (3)	7,2 \pm 6,2 (3)
	gesamt	21,6 \pm 4,1 (13)	1,18 \pm 0,09 (13)	50,3 \pm 25,4 (14)

‡ Faktorabstufung reduziert aufgrund geringer Zelhäufigkeiten

Tabelle 5-3 Haupteffekte bei CRF-Patienten†

Faktor/Kovariate	Thiamin ^Σ im Plasma			α-ETK			Thiamin ^Σ im Urin		
	F	df	p-value	F	df	p-value	F	df	p-value
Thiaminzufuhr	0,935	1	0,359	0,956	1	0,354	0,969	1	0,348
Alter	0,202	1	0,664	0,206	1	0,660	0,018	1	0,895
Geschlecht	0,928	1	0,361	0,676	1	0,432	1,587	1	0,236

† keine Faktorwechselwirkungen aufgrund geringer df

Ebenso lagen keine Wechselwirkungen zwischen den Faktoren vor. Die Scr-Konzentration lag bei dieser Gruppe zwischen 222 und 901 µmol/l und wurde deshalb als Faktor nicht berücksichtigt. Der Wertebereich des 24-h-Harnvolumens bewegte sich zwischen 126 und 400 ml und widerspiegelt die oligurischen Verhältnisse. Sieben Patienten (50%) hatten eine Thiaminausscheidung im 24-h-Urin, die unterhalb des Grenzwertes für eine mangelhaften Versorgung lag.

Tabelle 5-4 Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, α-ETK und Thiamin^Σ-Ausscheidung in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminaufnahme bei Transplantatempfängern

Alter (Jahre)‡	Geschlecht	Scr (µmol/l)	Thiamin ^Σ im Plasma (ng/ml) x̄ ± SD (N)	α-ETK x̄ ± SD (N)	Thiamin ^Σ im 24-h-Urin (µg) x̄ ± SD (N)	
20-50	männlich	< 107	7,7 (1)	1,15 (1)	145,0 (1)	
		107-1061	18,4 ± 3,5 (5)	1,33 ± 0,12 (5)	123,7 ± 7,6 (3)	
		gesamt	16,6 ± 3,8 (6)	1,30 ± 0,11 (6)	129,0 ± 8,2 (4)	
	weiblich	< 107	8,0 (1)	1,17 (1)	74,2 (1)	
		107-1061	19,7 ± 3,6 (3)	1,23 ± 0,05 (3)	249,6 (1)	
		gesamt	16,8 ± 4,1 (4)	1,21 ± 0,05 (4)	161,9 ± 62,0 (2)	
	gesamt	< 107	7,8 ± 0,1 (2)	1,16 ± 0,07 (2)	109,6 ± 25,0 (2)	
		107-1061	18,9 ± 3,2 (8)	1,29 ± 0,10 (8)	155,1 ± 32,1 (4)	
		gesamt	16,7 ± 3,7 (10)	1,27 ± 0,09 (10)	140,0 ± 29,7 (6)	
> 50	männlich	< 107	19,0 ± 4,9 (6)	1,12 ± 0,04 (6)	277,1 ± 75,6 (6)	
		107-1061	23,9 ± 3,7 (2)	1,31 ± 0,04 (2)	74,2 ± 2,4 (2)	
		gesamt	20,2 ± 4,5 (8)	1,17 ± 0,06 (8)	226,4 ± 79,3 (8)	
	weiblich	< 107	24,5 (1)	1,27 (1)	269,8 (1)	
		gesamt	24,5 (1)	1,27 (1)	269,8 (1)	
	gesamt	< 107	19,8 ± 4,6 (7)	1,14 ± 0,04 (7)	276,1 ± 69,0 (7)	
		107-1061	23,9 ± 3,7 (2)	1,31 ± 0,04 (2)	74,2 ± 2,4 (2)	
		gesamt	20,7 ± 4,3 (9)	1,18 ± 0,06 (9)	231,2 ± 74,5 (9)	
	gesamt	männlich	< 107	17,4 ± 5,0 (7)	1,13 ± 0,04 (7)	258,3 ± 73,4 (7)
			107-1061	19,9 ± 3,5 (7)	1,33 ± 0,10 (7)	103,9 ± 14,6 (5)
			gesamt	18,7 ± 4,2 (14)	1,23 ± 0,09 (14)	193,9 ± 67,8 (12)
		weiblich	< 107	16,2 ± 5,8 (2)	1,22 ± 0,04 (2)	172,0 ± 69,2 (2)
107-1061			19,7 ± 3,6 (3)	1,23 ± 0,05 (3)	249,6 (1)	
gesamt			18,3 ± 4,0 (5)	1,22 ± 0,04 (5)	197,9 ± 53,8 (3)	
gesamt		< 107	17,1 ± 4,8 (9)	1,15 ± 0,04 (9)	239,1 ± 70,7 (9)	
		107-1061	19,9 ± 3,3 (10)	1,30 ± 0,09 (10)	128,2 ± 32,5 (6)	
		gesamt	18,6 ± 4,0 (19)	1,23 ± 0,08 (19)	194,7 ± 63,4 (15)	

‡ Faktorabstufung reduziert aufgrund geringer Zellohligkeiten

Tabelle 5-5 Haupteffekte und Faktorwechselwirkungen bei Transplantatempfängern

Faktor/Kovariate	Thiamin ^Σ im Plasma			α-ETK			Thiamin ^Σ im Urin		
	F	df	p-value	F	df	p-value	F	df	p-value
Thiaminzufuhr	2,10	1	0,175	1,31	1	0,277	0,78	1	0,405
Alter	4,36	1	0,061	0,10	1	0,762	1,09	1	0,332
Geschlecht	0,49	1	0,495	0,10	1	0,753	0,04	1	0,846
Serum-Kreatinin	3,80	1	0,077	2,39	1	0,150	0,11	1	0,751
<i>Wechselwirkungen:</i>									
Alter × Geschlecht	0,37	1	0,553	0,44	1	0,521	0,23	1	0,647
Geschlecht × Scr	0,07	1	0,792	0,13	1	0,729	0,57	1	0,473
Alter × Scr	0,03	1	0,858	0,09	1	0,770	0,61	1	0,460

Bei den Transplantatempfängern hatten die Faktoren Alter, Geschlecht, Scr und durchschnittliche tägliche Thiaminzufuhr keinen Einfluss auf die Indikatoren des Thiaminstatus (Tab. 5-4 und 5-5). Zwischen den Faktoren bestanden keine Wechselwirkungen. Der Wertebereich des 24-h-Harnvolumens bewegte sich zwischen 1500 und 5000 ml und widerspiegelt normale Verhältnisse. Für die Berechnung der Thiaminausscheidung im Urin lagen von 15 Patienten auswertbare Datensätze vor. Hiervon hatte keiner einen Wert, der unterhalb des Grenzwertes einer defizitären Versorgung bei Gesunden lag. Bei drei Patienten (20,0%) entsprach die tägliche Thiaminausscheidung dem Referenzwert für einen marginalen Mangel bei Gesunden.

Tabelle 5-6 Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, α-ETK und Thiamin^Σ-Ausscheidung in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminaufnahme bei HD-Patienten mit 1,5 mg T-HCl p.o./Dialysebehandlung

Alter (Jahre)	Geschlecht	Scr (μmol/l)	Thiamin ^Σ im Plasma (ng/ml) $\bar{x} \pm SD (N)$	α-ETK $\bar{x} \pm SD (N)$	Thiamin ^Σ im 24-h-Urin (μg) $\bar{x} \pm SD (N)$
20-40	männlich	107-1061	16,1 ± 3,5 (2)	1,11 ± 0,01 (2)	-
		> 1061	17,3 (1)	1,22 (1)	-
		gesamt	16,5 ± 2,5 (3)	1,15 ± 0,03 (3)	-
	gesamt	107-1061	16,1 ± 3,5 (2)	1,11 ± 0,01 (2)	-
		> 1061	17,3 (1)	1,22 (1)	-
		gesamt	16,5 ± 2,5 (3)	1,15 ± 0,03 (3)	-
41-60	männlich	107-1061	9,9 ± 0,6 (2)	1,06 ± 0,02 (2)	-
		> 1061	27,9 ± 0,8 (2)	1,31 ± 0,16 (2)	1,78 (1)
		gesamt	18,9 ± 5,2 (4)	1,19 ± 0,12 (4)	1,78 (1)
	weiblich	107-1061	25,2 ± 2,5 (3)	1,13 ± 0,04 (3)	0,47 (1)
		gesamt	25,2 ± 2,5 (3)	1,13 ± 0,04 (3)	0,47 (1)
		gesamt	107-1061	19,1 ± 4,6 (5)	1,10 ± 0,04 (5)
	gesamt	> 1061	27,9 ± 0,8 (2)	1,31 ± 0,16 (2)	-
		gesamt	21,6 ± 4,3 (7)	1,16 ± 0,09 (7)	1,13 ± 0,46 (2)
		gesamt	107-1061	28,3 ± 5,6 (2)	1,00 ± 0,0 (2)
> 60	männlich	gesamt	28,3 ± 5,6 (2)	1,00 ± 0,0 (2)	6,24 ± 3,2 (2)
		gesamt	107-1061	29,7 ± 3,1 (3)	1,04 ± 0,02 (3)
	weiblich	gesamt	29,7 ± 3,1 (3)	1,04 ± 0,02 (3)	0,27 (1)
		gesamt	107-1061	29,1 ± 3,6 (5)	1,02 ± 0,02 (5)

(Fortsetzung Tabelle 5-6)

gesamt	männlich	gesamt	29,1 ± 3,6 (5)	1,02 ± 0,02 (5)	4,25 ± 2,9 (3)
		107-1061	18,1 ± 5,1 (6)	1,06 ± 0,03 (6)	-
		> 1061	24,3 ± 3,1 (3)	1,28 ± 0,11 (3)	-
	weiblich	gesamt	20,2 ± 4,6 (9)	1,13 ± 0,08 (9)	4,75 ± 2,6 (3)
		107-1061	27,4 ± 2,8 (6)	1,08 ± 0,04 (6)	-
		gesamt	27,4 ± 2,8 (6)	1,08 ± 0,04 (6)	0,37 ± 0,07 (2)
gesamt	gesamt	107-1061	22,8 ± 4,6 (12)	1,07 ± 0,03 (12)	-
		> 1061	24,3 ± 3,1 (3)	1,28 ± 0,11 (3)	-
		gesamt	23,1 ± 4,3 (15)	1,11 ± 0,07 (15)	3,00 ± 2,2 (5)

Tabelle 5-7 Haupteffekte und Faktorwechselwirkungen bei HD-Patienten mit 1,5 mg T-HCl p.o.

Faktor/Kovariate	Thiamin ^Σ im Plasma			α-ETK			Thiamin ^Σ im Urin [†]		
	F	df	p-value	F	df	p-value	F	df	p-value
Thiaminzufuhr	0,19	1	0,676	1,91	1	0,209	-	-	-
Alter	3,43	2	0,092	1,79	2	0,236	-	-	-
Geschlecht	2,39	1	0,166	1,68	1	0,237	-	-	-
Serum-Kreatinin	3,64	1	0,098	2,64	1	0,148	-	-	-
<i>Wechselwirkungen:</i>									
Geschlecht × Alter	2,12	1	0,188	0,39	1	0,552	-	-	-
Alter × Scr	1,20	1	0,309	2,12	1	0,189	-	-	-

† nicht berechnet, da auswertbare Datensätze N=5

Bei den HD-Patienten, die mit 1,5 mg T-HCl supplementiert wurden, hatten die Faktoren Alter, Geschlecht, Scr und die durchschnittliche tägliche Thiaminzufuhr keinen Einfluss auf die Indikatoren des Thiaminstatus (Tab. 5-6 und 5-7). Zwischen den Faktoren bestanden keine Wechselwirkungen. Fünf Patienten (33,3%) hatten eine komplette Anurie. Bei den übrigen 10 Patienten bewegte sich der Wertebereich des 24-h-Harnvolumens zwischen 30 und 1600 ml und widerspiegelt die anurischen/nokturischen Verhältnisse. Zur Berechnung der Thiaminausscheidung im Urin lagen von fünf Patienten auswertbare Datensätze vor. Infolge der Anurie lag hierbei die Thiaminausscheidung unterhalb des Grenzwertes für Gesunde, der mit einer defizitären Versorgung korreliert.

Bei den HD-Patienten, die mit 8,0 mg T-HCl supplementiert wurden, hatten die Faktoren Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminzufuhr keinen Einfluss auf die Indikatoren des Thiaminstatus (Tab. 5-8 und 5-9). Zwischen den Faktoren bestanden keine Wechselwirkungen. Bei vier Patienten (44,4%) lag eine vollständige Anurie vor. Der Wertebereich des 24-h-Urinvolmens der übrigen fünf Patienten betrug 60 bis 550 ml und widerspiegelt ebenfalls die anurischen/nokturischen Verhältnisse bei dieser Patientengruppe. Zur Berechnung der Thiaminausscheidung im Urin lagen von vier Patienten auswertbare Datensätze vor. Die Thiaminausscheidung lag infolge der Anurie unterhalb des Grenzwertes, der bei Gesunden mit einer defizitären Versorgung korreliert.

Tabelle 5-8 Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, α-ETK und Thiamin^Σ-Ausscheidung in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminaufnahme bei HD-Patienten mit 8,0 mg T-HCl p.o./Dialysebehandlung

Alter (Jahre) [‡]	Geschlecht	Scr (μmol/l) [†]	Thiamin ^Σ im Plasma (ng/ml)	α-ETK	Thiamin ^Σ im 24-	
			$\bar{x} \pm SD$ (N)	$\bar{x} \pm SD$ (N)	h-Urin (μg)	
20-50	männlich	> 800	36,5 ± 0,38 (2)	1,19 ± 0,02 (2)	0,8 ± 0,2 (2)	
		gesamt	36,5 ± 0,38 (2)	1,19 ± 0,02 (2)	0,8 ± 0,2 (2)	
	weiblich	> 800	16,1 ± 0,1 (2)	1,26 ± 0,08 (2)	5,39 (1)	
		gesamt	16,1 ± 0,1 (2)	1,26 ± 0,08 (2)	5,39 (1)	
	gesamt	> 800	26,3 ± 5,9 (4)	1,23 ± 0,05 (4)	2,34 ± 1,33 (3)	
		gesamt	26,3 ± 5,9 (4)	1,23 ± 0,05 (4)	2,34 ± 1,33 (3)	
> 50	männlich	> 800	64,1 (1)	1,17 (1)	-	
		< 800	24,5 ± 11,5 (2)	1,05 ± 0,01 (2)	0,24 (1)	
		gesamt	37,7 ± 14,0 (3)	1,09 ± 0,04 (3)	0,24 (1)	
	weiblich	> 800	17,3 (1)	1,28 (1)	-	
		< 800	50,4 (1)	1,27 (1)	-	
		gesamt	33,9 ± 11,7 (2)	1,28 ± 0,04 (2)	-	
	gesamt	> 800	40,7 ± 16,6 (2)	1,22 ± 0,04 (2)	-	
		< 800	33,1 ± 11,1 (3)	1,12 ± 0,07 (3)	0,24 (1)	
		gesamt	36,2 ± 11,6 (5)	1,16 ± 0,06 (5)	0,24 (1)	
	gesamt	männlich	> 800	45,7 ± 7,9 (3)	1,19 ± 0,01 (3)	0,81 ± 0,21 (2)
			< 800	24,5 ± 11,5 (2)	1,05 ± 0,01 (2)	0,24 (1)
			gesamt	37,2 ± 9,9 (5)	1,13 ± 0,04 (5)	0,62 ± 0,22 (3)
weiblich		> 800	16,5 ± 0,4 (3)	1,27 ± 0,05 (3)	5,39 (1)	
		< 800	50,4 (1)	1,27 (1)	-	
		gesamt	24,9 ± 8,5 (4)	1,27 ± 0,05 (4)	5,39 (1)	
gesamt		> 800	31,1 ± 9,5 (6)	1,23 ± 0,04 (6)	2,34 ± 1,33 (3)	
		< 800	33,1 ± 11,1 (3)	1,12 ± 0,07 (3)	0,24 (1)	
		gesamt	31,8 ± 9,3 (9)	1,19 ± 0,06 (9)	1,82 ± 1,21 (4)	

[†] Faktorabstufung modifiziert aufgrund geringer Zellhäufigkeiten

[‡] Faktorabstufung reduziert aufgrund geringer Zellhäufigkeiten

Tabelle 5-9 Haupteffekte und Faktorwechselwirkungen bei HD-Patienten mit 8,0 mg T-HCl p.o.

Faktor/Kovariate	Thiamin ^Σ im Plasma			α-ETK			Thiamin ^Σ im Urin [†]		
	F	df	p-value	F	df	p-value	F	df	p-value
Thiaminzufuhr	1,05	1	0,381	0,005	1	0,949	-	-	-
Alter	0,52	1	0,523	0,003	1	0,960	-	-	-
Geschlecht	1,61	1	0,295	2,22	1	0,233	-	-	-
Serum-Kreatinin	0,60	1	0,494	0,49	1	0,533	-	-	-
<i>Wechselwirkungen:</i>									
Geschlecht × Alter	0,83	1	0,431	0,41	1	0,569	-	-	-

[†] Einfluss nicht berechnet, da auswertbare Datensätze N=4

Tabelle 5-10 Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, α-ETK und Thiamin^Σ-Ausscheidung in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminaufnahme bei unsupplementierten HD-Patienten

Alter (Jahre)	Geschlecht	Scr (μmol/l)	Thiamin ^Σ im Plas-	α-ETK	Thiamin ^Σ im 24-
			ma (ng/ml) x̄ ± SD (N)	x̄ ± SD (N)	h-Urin (μg) x̄ ± SD (N)
20-40	männlich	107-1061	21,9 ± 11,7 (2)	1,07 ± 0,01 (2)	-
		> 1061	35,7 (1)	1,38 (1)	-
		gesamt	26,5 ± 9,2 (3)	1,17 ± 0,10 (3)	-
	weiblich	107-1061	12,1 ± 1,0 (2)	1,12 ± 0,08 (2)	-
		gesamt	12,1 ± 1,0 (2)	1,12 ± 0,08 (2)	-
		gesamt	17,0 ± 7,4 (4)	1,09 ± 0,05 (4)	-
41-60	männlich	107-1061	32,0 ± 7,7 (5)	1,11 ± 0,06 (5)	2,67 ± 1,9 (3)
		> 1061	7,8 (1)	1,25 (1)	-
		gesamt	28,0 ± 8,5 (6)	1,14 ± 0,06 (6)	-
	weiblich	107-1061	36,9 ± 19,8 (4)	1,03 ± 0,02 (4)	0,44 (1)
		gesamt	36,9 ± 19,8 (4)	1,03 ± 0,02 (4)	0,44 (1)
		gesamt	34,2 ± 13,3 (9)	1,08 ± 0,05 (9)	2,12 ± 1,6 (4)
> 60	männlich	107-1061	41,5 ± 3,6 (2)	1,31 ± 0,16 (2)	7,75 (1)
		> 1061	27,8 (1)	1,05 (1)	-
		gesamt	37,0 ± 4,7 (3)	1,23 ± 0,14 (3)	7,75 (1)
	weiblich	107-1061	11,9 ± 2,7 (4)	1,11 ± 0,03 (4)	-
		gesamt	11,9 ± 2,7 (4)	1,11 ± 0,03 (4)	-
		gesamt	21,8 ± 8,1 (6)	1,18 ± 0,09 (6)	-
gesamt	männlich	107-1061	31,9 ± 7,8 (9)	1,15 ± 0,09 (9)	3,95 ± 2,0 (4)
		> 1061	23,8 ± 7,2 (3)	1,23 ± 0,08 (3)	-
		gesamt	29,8 ± 7,5 (12)	1,17 ± 0,08 (12)	3,95 ± 2,0 (4)
	weiblich	107-1061	21,9 ± 13,2 (10)	1,08 ± 0,04 (10)	0,44 (1)
		gesamt	21,9 ± 13,2 (10)	1,08 ± 0,04 (10)	0,44 (1)
		gesamt	26,6 ± 11,0 (19)	1,11 ± 0,07 (19)	3,25 ± 1,9 (5)
gesamt	> 1061	23,8 ± 7,2 (3)	1,23 ± 0,08 (3)	-	
	gesamt	26,3 ± 10,4 (22)	1,13 ± 0,07 (22)	3,25 ± 1,9 (5)	

Tabelle 5-11 Haupteffekte und Faktorwechselwirkungen bei unsupplementierten HD-Patienten

Faktor/Kovariate	Thiamin ^Σ im Plasma			α-ETK			Thiamin ^Σ im Urin†		
	F	df	p-value	F	df	p-value	F	df	p-value
Thiaminzufuhr	1,58	1	0,233	0,91	1	0,359	-	-	-
Alter	0,24	2	0,787	0,25	2	0,787	-	-	-
Geschlecht	1,03	1	0,329	1,56	1	0,235	-	-	-
Serum-Kreatinin	0,28	1	0,604	0,49	1	0,497	-	-	-
<i>Wechselwirkungen:</i>									
Geschlecht × Alter	1,42	2	0,280	0,43	2	0,661	-	-	-
Alter × Scr	1,19	2	0,338	3,63	2	0,059	-	-	-

† nicht berechnet, da N=5

Nach 14tägiger Unterbrechung der Supplementierung konnte bei den HD-Patienten wiederum kein Einfluss der Faktoren Alter, Geschlecht, Scr und Thiaminzufuhr auf die Indikatoren des Thiaminstatus festgestellt werden (Tab. 5-10 und 5-11). Zwischen den Faktoren bestanden keine Wechselwirkungen. Bei 13 Patienten (56,5%) lag eine vollständige Anurie vor. Zur Berechnung der Thiaminausscheidung im Urin lagen von vier Patienten auswertbare Datensätze vor. Auch hier war aufgrund anurischer Verhältnisse die Thiaminausscheidung geringer als der Grenzwert, der bei Gesunden einer defizitären Versorgung entspricht. Die Transplantatempfänger hatten beim Vergleich mit den Referenzwerten (Anonym, 2000b) die höchste Prävalenz eines defizitären Versorgungszustands, wenn α -ETK als einziger Parameter betrachtet wird (Tab. 5-12).

Tabelle 5-12 Prävalenzen eines niedrigen Thiaminstatus, eingeschätzt anhand von α -ETK

α -ETK	Patientengruppe				
	CRF	RT	DP + 1,5 mg	DP + 8,0 mg	DP ohne Supplementierung
befriedigend	61,5%	52,6%	86,6%	55,6%	78,3%
marginaler Mangel	7,8%	10,5%	6,7%	11,1%	4,3%
Mangel	30,7%	36,9%	6,7%	33,3%	17,4%

Da ein Einfluss der Faktoren Alter, Geschlecht und Scr auf den Thiaminstatus bei den Patienten nicht nachzuweisen war, wurden für nachfolgende explorative Analysen in jeder Gruppe Männer und Frauen ungeachtet von Alter und Scr zusammengefasst, um die Stichprobengröße zu maximieren.

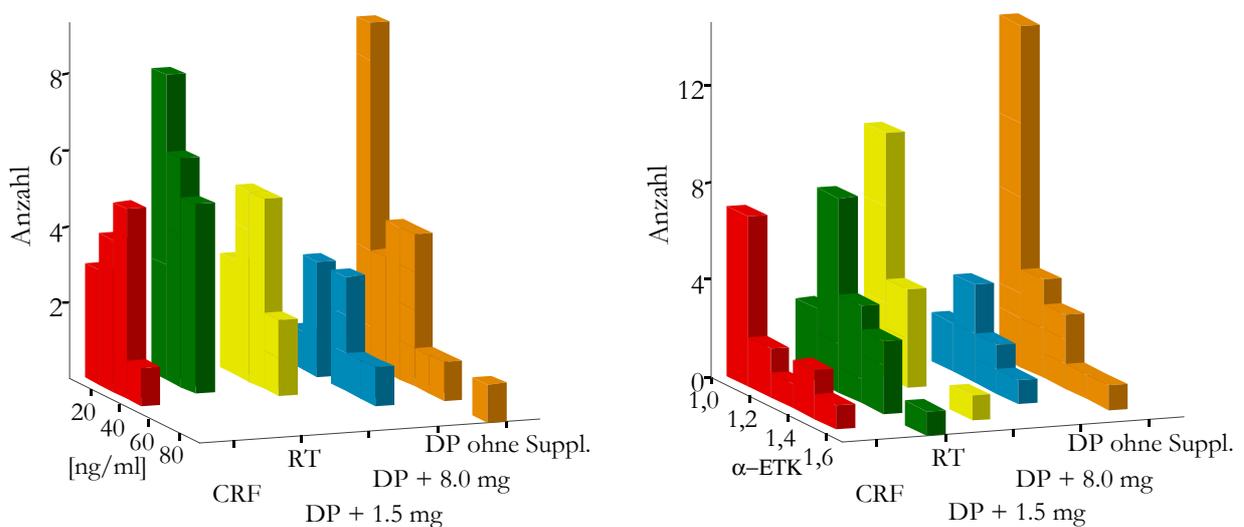


Abb. 5-2 Histogramm der Thiamin²-Konzentration im Plasma (links) und α -ETK (rechts)

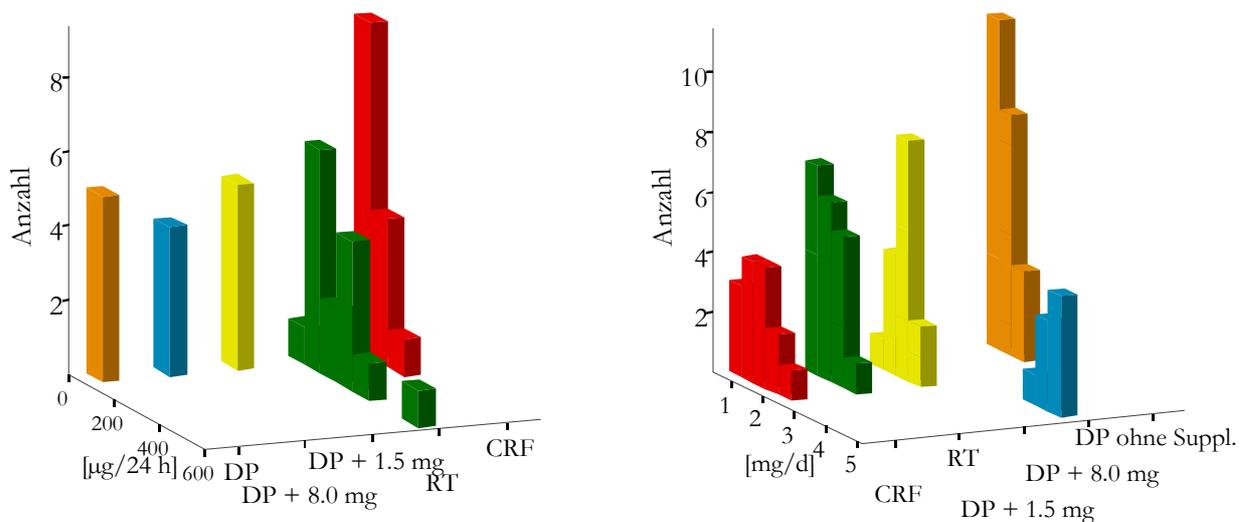


Abb. 5-3 Histogramm der Thiamin^Σ-Konzentration im 24-h-Urin (links) und der durchschnittlichen Thiaminzufuhr (rechts)

Abb. 5-2 zeigt zunächst die Verteilungsform der Thiamin^Σ-Konzentrationen im Plasma und der Aktivierungskoeffizienten der erythrozytären Transketolase, die jeweils nicht signifikant von der Normalverteilung abweichen. Auffällig sind die linkssteilen Verteilungen der beiden Parameter bei den unsupplementierten Dialysepatienten: das Schiefemaß beträgt für die Verteilung der Plasmakonzentration $1,7 \pm 0,5$ (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes) und $1,6 \pm 0,5$ für α -ETK, was einer deutlichen Abweichung von der Symmetrie entspricht. Stark linkssteil verteilt sind auch die Aktivierungskoeffizienten der mit 1,5 mg T-HCl supplementierten Patienten: das Schiefemaß beträgt $2,3 \pm 0,6$. Eine extrem flache und linkssteile Verteilung liegt bei den Aktivierungskoeffizienten der CRF-Patienten vor: die Kurtosis beträgt $-0,7 \pm 1,2$. Ebenfalls nicht signifikant von der Normalverteilung verschieden waren die Thiamin^Σ-Ausscheidung im Urin und die durchschnittliche tägliche Thiaminzufuhr (Abb. 5-3). Der anschließende Gruppenvergleich ergab, dass zwischen den Patientengruppen signifikante Unterschiede lediglich in der sich aus den 7-Tage-Ernährungsprotokollen ergebenden durchschnittlichen täglichen Thiaminzufuhr und in der Thiaminausscheidung bestanden. Dabei waren die unsupplementierten Dialysepatienten durch die niedrigste absolute durchschnittliche Thiaminzufuhr gekennzeichnet (Tab. 5-13). Innerhalb der Gruppen wurde die absolute Thiaminzufuhr weder von Alter, Geschlecht, BMI noch den Konsum alkoholischer Getränke beeinflusst.

Tabelle 5-13 Indikatoren des Thiaminstatus bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (CRF), Transplantatempfängern (RT) und Hämodialysepatienten (DP), Mittelwert \pm SD

Parameter	Patientengruppe				
	CRF	RT	DP + 1,5 mg	DP + 8,0 mg	DP ohne Supplementierung
Thiaminzufuhr (mg) [†]	1,26 \pm 0,42 ^a (N=14)	1,42 \pm 0,34 ^{a,b} (N=19)	1,69 \pm 0,35 ^b (N=15)	4,39 \pm 0,30 ^c (N=9)	0,83 \pm 0,30 ^d (N=22)
Thiamin Σ -Plasmakonzentration (ng/ml)	21,6 \pm 8,2 ^a (N=13)	18,9 \pm 8,0 ^a (N=19)	23,1 \pm 8,6 ^a (N=15)	31,8 \pm 18,6 ^a (N=9)	26,4 \pm 20,4 ^a (N=23)
α -ETK	1,18 \pm 0,19 ^a (N=13)	1,22 \pm 0,16 ^a (N=19)	1,11 \pm 0,11 ^a (N=15)	1,19 \pm 0,11 ^a (N=9)	1,13 \pm 0,14 ^a (N=23)
Thiamin Σ im 24-h-Urin (μ g)	50,3 \pm 50,8 ^a (N=14)	194,7 \pm 126,9 ^b (N=15)	3,0 \pm 4,4 ^a (N=5)	1,8 \pm 2,4 ^a (N=4)	3,3 \pm 3,8 ^a (N=5)

Werte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$), berechnet mittels ANOVA mit anschließendem Bonferroni-Test

[†] Supplementierung bei DP eingerechnet (Häufigkeit: dreimal wöchentlich)

Signifikante Unterschiede bestanden in der absoluten Gesamtenergiezufuhr und der Nährstoffdichte für Thiamin (Tab. 5-14). Dabei beeinflusste das Geschlecht weder die absolute oder relative Energiezufuhr noch die relative Thiaminzufuhr.

Tabelle 5-14 Gesamtenergiezufuhr und relative Thiaminzufuhr der Studienteilnehmer, Mittelwert \pm SD

Parameter	Patientengruppe				
	CRF	RT	DP + 1,5 mg [†]	DP + 8,0 mg [†]	DP ohne Supplementierung
Gesamtenergiezufuhr (kcal)	2075 \pm 524 ^a	2150 \pm 415 ^a	1696 \pm 405 ^a	1650 \pm 433 ^a	1559 \pm 526 ^b
relative Energiezufuhr (kcal/kg)	29,7 \pm 9,2 ^a	31,2 \pm 8,3 ^a	26,5 \pm 8,1 ^a	24,7 \pm 8,3 ^a	24,2 \pm 8,5 ^a
Nährstoffdichte für Thiamin (mg/1000 kcal)	0,61 \pm 0,17 ^a	0,66 \pm 0,12 ^a	1,01 \pm 0,15 ^b	2,79 \pm 0,60 ^c	0,60 \pm 0,42 ^a

Werte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$), berechnet mittels ANOVA mit anschließendem Bonferroni-Test

[†] Supplementierung eingerechnet (Häufigkeit: dreimal wöchentlich)

Die relative Häufigkeit von Patienten, die die RDA von 1,2 mg für Männer bzw. 1,1 mg für Frauen (Anonym, 2000b) nicht erreichte, betrug 32% in der RT-Gruppe, 43% in der CRF-Gruppe, 82% in der un-supplementierten DP-Gruppe und konsequenterweise 0% in beiden supplementierten DP-Gruppen. Die durchschnittliche tägliche Thiaminzufuhr während der zwei Dialysetage, kalkuliert mittels 2-Tage-Ernährungsprotokollen, unterschied sich zwischen den untersuchten Gruppen von Dialysepatienten nicht ($p > 0,05$) und betrug $0,95 \pm 0,4$ mg bei den mit 1,5 mg supplementierten,

0,96 ± 0,04 mg bei den mit 8,0 mg supplementierten und 0,98 ± 0,4 mg bei den unsupplementierten Patienten. Bei den unsupplementierten Patienten stimmte die anhand der 2-Tage-Protokolle ermittelte Thiaminzufuhr mit der aus den 7-Tage-Protokollen kalkulierten überein (Gruppenvergleich mittels T-Test für gepaarte Stichproben: $p = 0,21$, zweiseitig). Eine Änderung der üblichen Ernährungsgewohnheiten infolge der Teilnahme an der Studie kann mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Tabelle 5-15 Korrelationen (Signifikanz) zwischen der durchschnittlichen täglichen Thiaminzufuhr, Gesamtenergiezufuhr und Indikatoren des Thiaminstatus[‡]

Parameter	Patientengruppe				
	CRF	RT	DP + 1,5 mg [†]	DP + 8,0 mg [†]	DP ohne Supplementierung
Thiamin ^Σ -Plasmakonzentration (ng/ml)	-0,147 ($p = 0,631$)	0,322 ($p = 0,178$)	-0,317 ($p = 0,173$)	-0,105 ($p = 0,787$)	0,129 ($p = 0,567$)
α-ETK	0,173 ($p = 0,572$)	0,183 ($p = 0,452$)	0,164 ($p = 0,558$)	0,03 ($p = 0,938$)	-0,260 ($p = 0,244$)
Thiamin ^Σ im 24-h-Urin (μg)	0,405 ($p = 0,150$)	0,380 ($p = 0,162$)	0,767 ($p = 0,130$)	-0,25 ($p = 0,75$)	-0,769 ($p = 0,129$)
Energiezufuhr (kcal)	0,638 ($p = 0,014$)	0,633 ($p = 0,004$)	0,812 ($p < 0,001$)	0,767 ($p = 0,016$)	0,096 ($p = 0,672$)

[†] Supplementierung eingerechnet (Häufigkeit: dreimal wöchentlich)

[‡] Korrelationskoeffizient r nach Pearson

Zusätzlich zu den in Tab. 5-15 dargestellten Beziehungen bestanden folgende Korrelationen: vor der ersten Dialyse zwischen der Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma und der Thiaminausscheidung in der mit 8,0 mg supplementierten DP-Gruppe ($r = -0,98$; $p = 0,01$), ebenfalls vor der ersten Dialyse zwischen α-ETK und der Thiaminausscheidung im Urin in der unsupplementierten DP-Gruppe ($r = 0,975$; $p = 0,005$).

5.2.2 Einfluss der Dialysebehandlung auf den Thiaminstatus

Die Veränderung der Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, der Thiaminausscheidung im 24-h-Urin oder α-ETK vor und nach einer einzelnen Dialysebehandlung ist durch eine große Varianz gekennzeichnet (Abb. 5-4 und 5-5).

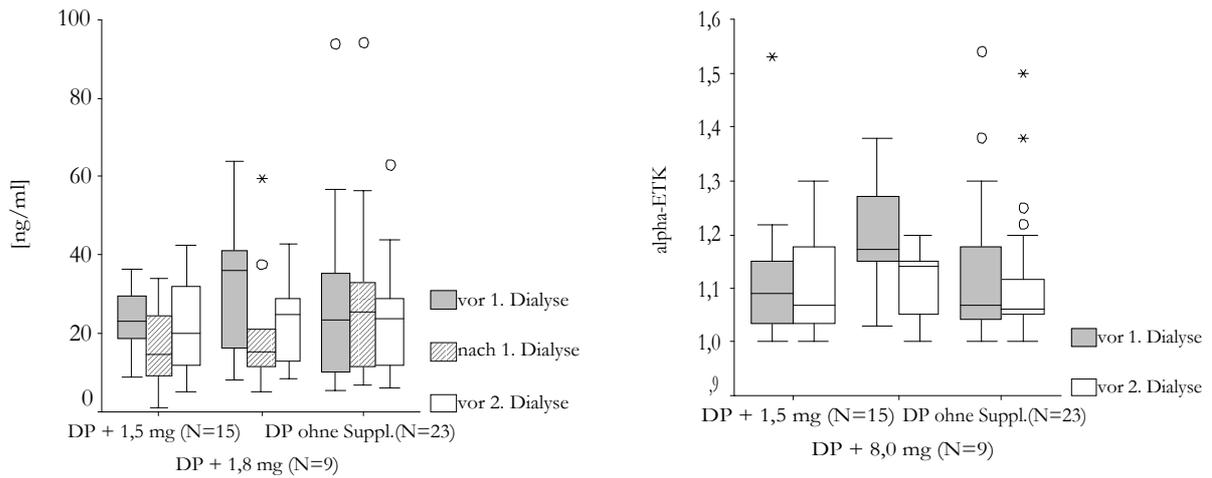


Abb. 5-4 Einfluss der Dialysebehandlung auf die Thiaminkonzentration im Plasma (links) und α -E_{VK} (rechts) (Boxen repräsentieren Median und 25./75. Perzentile, *= Extremwert, ° = Ausreißer)

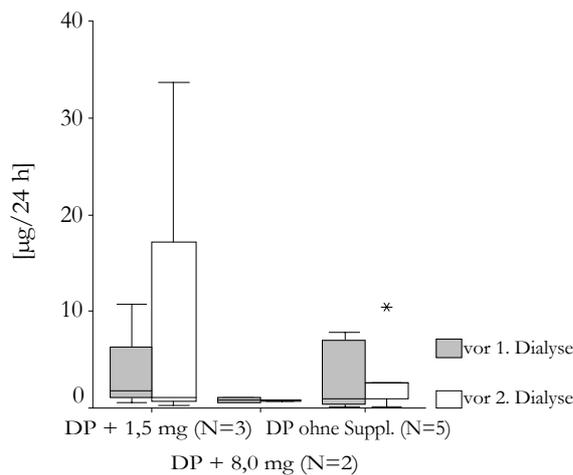


Abb. 5-5 Einfluss der Dialysebehandlung auf die Thiaminausscheidung im Urin (Boxen repräsentieren Median und 25./75. Perzentile, *= Extremwert, ° = Ausreißer)

Während bei den supplementierten Patienten nach der Dialysebehandlung ein nicht-signifikanter Abfall der Thiamin^Σ-Plasmakonzentration auf 75 bzw. 82% des Ausgangswertes beobachtet werden konnte, ist bei den unsupplementierten Dialysepatienten eine Erhöhung der Konzentration auf durchschnittlich 131% festzustellen (Tab. 5-16 bis 5-18). Nach 44 Stunden erreichten die Plasmakonzentrationen der supplementierten Patienten 110 bzw. 97% des Ausgangswertes; bei den unsupplementierten Patienten verblieben diese auf einem Niveau von durchschnittlich 133% des Ausgangswertes. Der Aktivierungskoeffizient der Transketolase blieb dagegen nahezu unbeeinflusst.

Tabelle 5-16 Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, α-ETK und 24-h-Urinausscheidung von Thiamin^Σ vor und nach der Dialysebehandlung sowie vor Beginn der zweiten Dialysebehandlung bei Patienten, die mit 1,5 mg T-HCl supplementiert wurden, Mittelwert ± SD

	Thiamin ^Σ - Konzentration im Plasma (ng/ml)	α-ETK	Thiamin ^Σ im 24- h-Urin (µg) [†]
vor 1. Dialyse	23,1 ± 8,6	1,11 ± 0,13	3,00 ± 4,40
nach 1. Dialyse	15,7 ± 9,6	-	-
Veränderung nach Dialyse (%)	75,2 ± 57,2	-	-
vor 2. Dialyse	22,1 ± 12,6	1,11 ± 0,11	7,17 ± 14,8
Veränderung zum Ausgangswert (%)	110,3 ± 80,0	100,5 ± 11,3	144,5 ± 145,6

† N=3

Tabelle 5-17 Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, α-ETK und 24-h-Urinausscheidung von Thiamin^Σ vor und nach der Dialysebehandlung sowie vor Beginn der zweiten Dialysebehandlung bei Patienten, die mit 8,0 mg T-HCl supplementiert wurden, Mittelwert ± SD

	Thiamin ^Σ - Konzentration im Plasma (ng/ml)	α-ETK	Thiamin ^Σ im 24- h-Urin (µg) [†]
vor 1. Dialyse	31,8 ± 18,6	1,19 ± 0,11	1,81 ± 2,41
nach 1. Dialyse	20,7 ± 17,4	-	-
Veränderung nach Dialyse (%)	82,2 ± 74,5	-	-
vor 2. Dialyse	23,4 ± 11,5	1,10 ± 0,07	0,74 ± 0,05
Veränderung zum Ausgangswert (%)	97,0 ± 80,8	93,3 ± 13,1	104,8 ± 49,7

† N=2

Tabelle 5-18 Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, α-ETK und 24-h-Urinausscheidung von Thiamin^Σ vor und nach der Dialysebehandlung sowie vor Beginn der zweiten Dialysebehandlung bei unsupplementierten Patienten, Mittelwert ± SD

	Thiamin ^Σ - Konzentration im Plasma (ng/ml)	α-ETK	Thiamin ^Σ im 24- h-Urin (µg) [†]
vor 1. Dialyse	26,4 ± 20,4	1,13 ± 0,14	3,25 ± 3,79
nach 1. Dialyse	27,5 ± 19,8	-	-
Veränderung nach Dialyse (%)	131,4 ± 89,6	-	-
vor 2. Dialyse	22,6 ± 13,5	1,11 ± 0,12	3,75 ± 2,99
Veränderung zum Ausgangswert (%)	133,2 ± 132,0	99,8 ± 16,3	382,2 ± 605,4

† N=5

Unter Berücksichtigung verschiedener Merkmale der Dialysebehandlung, die ihrerseits als Zwischensubjektfaktoren bei der Änderung der Statusparameter zwischen den zwei Dialysebehandlungen zu berücksichtigen sind, ergab die statistische Auswertung, dass bei den mit 1,5 mg T-HCl supplementierten Patienten die Veränderung der Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma zwischen zwei Dialysebehandlungen von der Behandlungshäufigkeit abhängig war: Patienten mit geringerer Dialysefrequenz zeichneten sich durch eine stärkere Verringerung der Plasmagehalte aus als Patienten mit höherer Dialysefrequenz (Tab. 5-19).

Tabelle 5-19 Einfluss der wöchentlichen Behandlungshäufigkeit, Dauer der Einzelbehandlung, Blutflussrate und Art der verwendeten Dialysemembran auf die Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma und α-ETK bei Dialysepatienten, die mit 1,5 mg T-HCl supplementiert wurden†

Innersubjektfaktor: Zeitpunkt	Thiamin ^Σ im Plasma (ng/ml)		α-ETK	
	2 × wöchentlich (N=2)	3 × wöchentlich (N=13)	2 × wöchentlich (N=2)	3 × wöchentlich (N=13)
vor 1. Dialyse	22,2 ± 18,7	23,2 ± 7,5	1,05 ± 0,02	1,12 ± 0,14
nach 1. Dialyse	8,7 ± 10,9	16,8 ± 9,4	-	-
vor 2. Dialyse	30,7 ± 0,95	20,8 ± 13,1	1,06 ± 0,01	1,12 ± 0,11
<i>Einfluss: Behandlungshäufigkeit</i>	F = 0,002, df = 1 p = 0,968		F = 0,95, df = 1 p = 0,347	
<i>Einfluss: Zeit</i>	F = 4,65, df = 2 p = 0,032 (Zeit) F = 1,71, df = 2 p = 0,222 (Zeit × Häufigkeit)		F = 0,004, df = 1 p = 0,948 (Zeit) F = 0,032, df = 1 p = 0,861 (Zeit × Häufigkeit)	
<i>Zwischensubjektfaktor: Behandlungsdauer</i>				
	180-240 min (N=12)	> 240 min (N=3)	180-240 min (N=12)	> 240 min (N=3)
vor 1. Dialyse	24,7 ± 8,6	16,5 ± 5,0	1,10 ± 0,15	1,15 ± 0,06
nach 1. Dialyse	15,9 ± 10,8	15,0 ± 1,7	-	-
vor 2. Dialyse	23,9 ± 13,5	15,1 ± 4,3	1,10 ± 0,11	1,14 ± 0,09
<i>Einfluss: Behandlungsdauer</i>	F = 1,66, df = 1 p = 0,220		F = 0,52, df = 1 p = 0,483	
<i>Einfluss: Zeit</i>	F = 1,09, df = 2 p = 0,366 (Zeit) F = 0,66, df = 2 p = 0,534 (Zeit × Dauer)		F = 0,014, df = 1 p = 0,906 (Zeit) F = 0,005, df = 1 p = 0,944 (Zeit × Dauer)	
<i>Zwischensubjektfaktor: Blutflussrate (QB)‡</i>				
	230-260 ml/min (N=6)	> 270 ml/min (N=9)	230-260 ml/min (N=6)	> 270 ml/min (N=9)
vor 1. Dialyse	22,9 ± 8,1	23,2 ± 9,4	1,15 ± 0,19	1,09 ± 0,07
nach 1. Dialyse	11,4 ± 9,1	18,6 ± 9,2	-	-
vor 2. Dialyse	22,7 ± 11,5	21,7 ± 14,0	1,09 ± 0,11	1,12 ± 0,10
<i>Einfluss: QB</i>	F = 0,288, df = 1 p = 0,600		F = 0,118, df = 1 p = 0,736	
<i>Einfluss: Zeit</i>	F = 4,49, df = 2 p = 0,035 (Zeit) F = 1,04, df = 2 p = 0,382 (Zeit × QB)		F = 0,114, df = 1 p = 0,741 (Zeit) F = 1,42, df = 1 p = 0,255 (Zeit × QB)	
<i>Zwischensubjektfaktor: Membran</i>				
	High-Flux (N=5)	Low-Flux (N=10)	High-Flux (N=5)	Low-Flux (N=10)
vor 1. Dialyse	22,8 ± 8,2	23,2 ± 9,2	1,22 ± 0,18	1,06 ± 0,06
nach 1. Dialyse	9,3 ± 4,8	18,9 ± 9,9	-	-
vor 2. Dialyse	9,8 ± 3,5	28,2 ± 10,8	1,16 ± 0,11	1,08 ± 0,09

(Fortsetzung Tabelle 5-19)

<i>Einfluss: Membran</i>	$F = 8,53, df = 1$ $p = 0,012$	$F = 9,13, df = 1$ $p = 0,01$
<i>Einfluss: Zeit</i>	$F = 4,86, df = 2$ $p = 0,028$ (Zeit) $F = 4,68, df = 2$ $p = 0,031$ (Zeit \times Membran)	$F = 0,20, df = 1$ $p = 0,661$ (Zeit) $F = 1,13, df = 1$ $p = 0,308$ (Zeit \times Membran)

† Die Anzahl auswertbarer Datensätze, die Angaben zur verwendeten Dialysatflussrate (QD) enthielten, betrug $N=8$; der Faktor QD besaß zudem nur die Abstufung 500 ml/min und wurde deshalb als konstant angenommen

‡ die ursprüngliche Faktorabstufung „230-260 ml/min“ – „270-280 ml/min“ – „> 300 ml/min“ wurde verändert in „230-260 ml/min“ und „> 270 ml/min“, da nur ein Patient ($N=1$) mit > 300 ml/min behandelt wurde

Auch bei Gruppierung nach der verwendeten Blutflussrate (QB) zeigte sich, dass Patienten mit niedrigerer QB zu einer deutlich ausgeprägteren Verringerung der Plasmagehalte neigten als bei Anwendung höherer QB. Die Gruppierung nach Molekülausschlussgrenze der verwendeten Dialysemembran zeigt zunächst einen signifikanten Einfluss auf die Höhe der Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration vor Beginn der ersten Dialyse. Allerdings bedeutet die signifikante Wechselwirkung zwischen dem Faktor Zeit und Membran, dass der Abfall der Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration zwischen den Dialysebehandlungen von der verwendeten Membran abhängig ist, d.h. die Regressionsgeraden für den Faktor Zeit in Abhängigkeit von der Membran haben unterschiedliche Steigungen, was wiederum bedeutet, dass diese Faktoren nicht unabhängig voneinander wirken. Für α -ETK konnte gleichfalls nachgewiesen werden, dass ein signifikanter Einfluss der verwendeten Membran besteht: Patienten, die mit High-Flux-Membranen dialysiert wurden, zeichneten sich offenbar nicht nur durch niedrigere Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration im Plasma, sondern auch durch schlechtere α -ETK-Werte aus.

Bei den Patienten, die mit 8 mg T-HCl supplementiert wurden, konnte festgestellt werden, dass wiederum die Molekülausschlussgrenze der verwendeten Membran das Ausmaß der Verringerung der Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration im Plasma beeinflusste (Tab. 5-20).

Tabelle 5-20 Einfluss der Behandlungsdauer, Blutflussrate und Art der verwendeten Dialysemembran auf die Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration im Plasma und α -ETK bei Dialysepatienten, die mit 8,0 mg T-HCl supplementiert wurden†

<i>Innersubjektfaktor:</i>	Thiamin $^{\Sigma}$ im Plasma (ng/ml)		α -ETK	
	<i>Zwischensubjektfaktor: Behandlungsdauer</i>			
<i>Zeitpunkt</i>	180-240 min ($N=3$)	> 240 min ($N=6$)	180-240 min ($N=3$)	> 240 min ($N=6$)
vor 1. Dialyse	24,7 \pm 14,0	35,3 \pm 20,8	1,23 \pm 0,18	1,17 \pm 0,07
nach 1. Dialyse	10,9 \pm 5,3	25,5 \pm 19,7	-	-
vor 2. Dialyse	22,0 \pm 12,2	24,1 \pm 12,2	1,14 \pm 0,08	1,08 \pm 0,07

(Fortsetzung Tabelle 5-20)

<i>Einfluss: Behandlungsdauer</i>	$F = 0,943, df = 1$ $p = 0,364$		$F = 3,04, df = 1$ $p = 0,125$	
<i>Einfluss: Zeit</i>	$F = 1,64, df = 2$ $p = 0,270$ (Zeit)		$F = 2,34, df = 1$ $p = 0,170$ (Zeit)	
	$F = 0,593, df = 2$ $p = 0,582$ (Zeit \times Dauer)		$F = 0,001, df = 1$ $p = 0,979$ (Zeit \times Dauer)	
<i>Zwischensubjektfaktor: Blutflussrate (QB)</i>				
	230-260 ml/min (N=4)	270-280 ml/min (N=5)	230-260 ml/min (N=4)	270-280 ml/min (N=5)
vor 1. Dialyse	36,1 \pm 13,9	38,3 \pm 22,7	1,20 \pm 0,12	1,19 \pm 0,12
nach 1. Dialyse	22,1 \pm 25,1	19,5 \pm 11,2	-	-
vor 2. Dialyse	22,0 \pm 11,5	24,5 \pm 12,7	1,13 \pm 0,09	1,08 \pm 0,06
<i>Einfluss: QB</i>	$F = 0,08, df = 1$ $p = 0,786$		$F = 0,82, df = 1$ $p = 0,395$	
<i>Einfluss: Zeit</i>	$F = 2,33, df = 2$ $p = 0,178$ (Zeit)		$F = 2,49, df = 1$ $p = 0,158$ (Zeit)	
	$F = 0,54, df = 2$ $p = 0,608$ (Zeit \times QB)		$F = 0,09, df = 1$ $p = 0,776$ (Zeit \times QB)	
<i>Zwischensubjektfaktor: Membran</i>				
	High-Flux (N=3)	Low-Flux (N=6)	High-Flux (N=3)	Low-Flux (N=6)
vor 1. Dialyse	45,7 \pm 16,0	24,8 \pm 16,7	1,19 \pm 0,03	1,19 \pm 0,14
nach 1. Dialyse	18,8 \pm 16,3	21,6 \pm 19,3	-	-
vor 2. Dialyse	27,0 \pm 17,3	21,6 \pm 9,0	1,11 \pm 0,08	1,11 \pm 0,08
<i>Einfluss: Membran</i>	$F = 0,288, df = 1$ $p = 0,600$		$F = 0,04, df = 1$ $p = 0,848$	
<i>Einfluss: Zeit</i>	$F = 7,33, df = 2$ $p = 0,024$ (Zeit)		$F = 2,29, df = 1$ $p = 0,174$ (Zeit)	
	$F = 4,21, df = 2$ $p = 0,072$ (Zeit \times Membran)		$F = 0,00, df = 1$ $p = 0,989$ (Zeit \times Membran)	

† Der Faktor Behandlungshäufigkeit besaß nur die Abstufung 3 \times wöchentlich und wurde deshalb als konstant angenommen; der Faktor Dialysatflussrate (QD) betrug einheitlich 500 ml/min und wurde als konstant angenommen

Nach 14tägiger Unterbrechung der Supplementierung ließ sich aufgrund der großen Streuung der Messwerte ein Einfluss der einzelnen Faktoren bei denselben Patienten nicht sichern. Beispielsweise führte die Verwendung von High-Flux-Membranen nur zu tendenziell geringeren Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma, die zwischen den Dialysebehandlungen auch stärker abfielen, während α -ETK jedoch gänzlich unbeeinflusst blieb (Tab. 5-21).

Tabelle 5-21 Einfluss der wöchentlichen Behandlungshäufigkeit, Dauer der Einzelbehandlung, Blutflussrate und Art der verwendeten Dialysemembran auf die Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma und α-ETK bei un-supplementierten Dialysepatienten†

Innersubjektfaktor: Zeitpunkt	Thiamin ^Σ im Plasma (ng/ml)		α-ETK	
	2 × wöchentlich (N=2)	3 × wöchentlich (N=20)	2 × wöchentlich (N=2)	3 × wöchentlich (N=20)
vor 1. Dialyse	16,7 ± 9,4	27,3 ± 21,6	1,12 ± 0,08	1,14 ± 0,14
nach 1. Dialyse	19,6 ± 13,9	28,4 ± 20,8	-	-
vor 2. Dialyse	16,8 ± 9,7	23,0 ± 14,2	1,05 ± 0,02	1,12 ± 0,13
<i>Einfluss: Behandlungshäufigkeit</i>	F = 0,488, df = 1 p = 0,493		F = 0,43, df = 1 p = 0,518	
<i>Einfluss: Zeit</i>	F = 0,211, df = 2 p = 0,811 (Zeit) F = 0,07, df = 2 p = 0,937 (Zeit × Häufigkeit)		F = 0,404, df = 1 p = 0,532 (Zeit) F = 0,189, df = 1 p = 0,668 (Zeit × Häufigkeit)	
<i>Zwischensubjektfaktor: Behandlungsdauer</i>				
	180-240 min (N=15)	> 240 min (N=8)	180-240 min (N=15)	> 240 min (N=8)
vor 1. Dialyse	22,0 ± 15,6	34,7 ± 26,4	1,14 ± 0,14	1,11 ± 0,13
nach 1. Dialyse	24,1 ± 15,6	33,8 ± 25,9	-	-
vor 2. Dialyse	18,6 ± 10,7	30,1 ± 15,7	1,10 ± 0,14	1,12 ± 0,08
<i>Einfluss: Behandlungsdauer</i>	F = 2,86, df = 1 p = 0,106		F = 0,82, df = 1 p = 0,395	
<i>Einfluss: Zeit</i>	F = 0,84, df = 2 p = 0,446 (Zeit) F = 0,13, df = 2 p = 0,880 (Zeit × Dauer)		F = 0,06, df = 1 p = 0,812 (Zeit) F = 0,28, df = 1 p = 0,601 (Zeit × Dauer)	
<i>Zwischensubjektfaktor: Blutflussrate (QB)</i>				
	230-260 ml/min (N=9)	> 270 ml/min (N=14)	230-260 ml/min (N=9)	> 270 ml/min (N=14)
vor 1. Dialyse	33,1 ± 27,8	22,1 ± 13,3	1,12 ± 0,08	1,13 ± 0,17
nach 1. Dialyse	37,1 ± 27,1	21,3 ± 10,2	-	-
vor 2. Dialyse	25,9 ± 18,7	20,5 ± 8,9	1,08 ± 0,11	1,13 ± 0,13
<i>Einfluss: QB</i>	F = 0,288, df = 1 p = 0,600		F = 0,04, df = 1 p = 0,848	
<i>Einfluss: Zeit</i>	F = 1,53, df = 2 p = 0,240 (Zeit) F = 2,68, df = 2 p = 0,117 (Zeitpunkt × QB)		F = 0,24, df = 1 p = 0,630 (Zeit) F = 0,61, df = 1 p = 0,445 (Zeitpunkt × QB)	
<i>Zwischensubjektfaktor: Membran</i>				
	High-Flux (N=7)	Low-Flux (N=16)	High-Flux (N=7)	Low-Flux (N=16)
vor 1. Dialyse	21,0 ± 12,4	28,8 ± 23,0	1,14 ± 0,13	1,12 ± 0,14
nach 1. Dialyse	18,2 ± 10,2	31,6 ± 21,7	-	-
vor 2. Dialyse	22,9 ± 7,2	22,5 ± 15,7	1,10 ± 0,10	1,12 ± 0,14

(Fortsetzung Tabelle 5-21)

<i>Einfluss: Membran</i>	$F = 0,92, df = 1$ $p = 0,347$	$F = 0,04, df = 1$ $p = 0,848$
<i>Einfluss: Zeit</i>	$F = 0,23, df = 2$ $p = 0,796$ (Zeit) $F = 1,88, df = 2$ $p = 0,179$ (Zeitpunkt \times Membran)	$F = 0,30, df = 1$ $p = 0,589$ (Zeit) $F = 0,17, df = 1$ $p = 0,687$ (Zeitpunkt \times Membran)

† Der Faktor Dialysatflussrate (QD) betrug einheitlich 500 ml/min und wurde als konstant angenommen

5.3 Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, mit Hilfe geeigneter statistischer Verfahren eine möglichst umfassende Charakterisierung des Thiaminstatus und dessen Beeinflussbarkeit an der heterogenen Gruppe von chronisch niereninsuffizienten Patienten vorzunehmen. Dazu sollten die biochemischen Messwerte mit dem Expositionsfaktor Thiaminzufuhr verglichen werden. Die Analyse der 7-Tage-Ernährungsprotokolle ergab zunächst, dass im Durchschnitt eine adäquate **Thiaminzufuhr** in Höhe der RDA von 1,2 mg für Männer und 1,1 mg für Frauen (Anonym, 2000b) bei den chronisch niereninsuffizienten Patienten mit kompensierter Retention und bei den Transplantatempfängern gewährleistet war. Dialysepatienten gelang dies aber offenbar nur mit Hilfe der Supplementierung. Es zeigt sich, dass die defizitäre durchschnittliche Thiaminzufuhr bei den Dialysepatienten durch die im Vergleich zu den anderen Patienten signifikant geringere absolute Energiezufuhr verursacht wurde, obwohl die Nährstoffdichte für Thiamin etwas über der von Gesunden lag (0,54 mg/1000 kcal) (Heseker et al., 1994). Auswertungen verschiedener Studien ergaben, dass bei gesunden Personen ein geschätzter durchschnittlicher Minimalbedarf von 0,3 mg/1000 kcal angenommen werden muss, damit Mangelerscheinungen vermieden werden, während 0,5 mg/1000 kcal nötig sind, damit eine Gewebssättigung und ausreichende Aktivität thiaminabhängiger Enzyme erreicht wird (Anonym, 2000b). Aufgrund der kurvilinearen Beziehung zwischen dem Thiamin- und dem Energiebedarf sollte allerdings auch bei geringem Energiebedarf/-zufuhr die Thiaminzufuhr nicht unterhalb von 1,0 mg liegen (Wood et al., 1980). Unter der Prämisse, dass eine gemischte Kost verzehrt wird, ist bis zu einer Energiezufuhr in Höhe von ca. 5000 kcal eine adäquate Thiaminzufuhr gegeben (van Erp-Baart et al., 1989). Die enge Korrelation zwischen Energie- und Thiaminzufuhr bei den konservativ behandelten Patienten und den Transplantatempfängern, nicht jedoch bei den unsupplementierten HD-Patienten, weist auf die Abhängigkeit der Thiaminzufuhr von der aufgenommenen Gesamtenergie hin. Umfassende Ernährungserhebungen bei HD-Patienten im deutschsprachigen Raum zeigen in der Tat, dass bei etwa einem Fünftel der Dialysepatienten eine erhebliche kalorische Unterversorgung (< 25 kcal/kg) vorliegt (Gebhardt, 1990). Die mittlere Energiezufuhr bei HD-Patienten wird mit 26-29 kcal/kg berichtet (Bergström, 1995). Somit muss angenommen werden, dass HD-Patienten die empfohlene Zufuhr von 30-35 kcal/kg überwiegend nicht erreichen. Konsequenterweise erreicht die mittlere tägliche Thiaminzufuhr nur 63% der Empfeh-

lungen. Die geringe Energiezufuhr bei den Dialysepatienten widerspiegelt in der Summe das komplexe Zusammenspiel dialyse-abhängiger und dialyse-unabhängiger Faktoren, die der Evolution einer urämischen Malnutrition Vorschub leisten (Ikizler und Hakim, 1998). Der bedeutendste dialyse-unabhängige Faktor ist der verminderte Appetit. Insbesondere dialyse-unabhängige Faktoren eines verminderten Appetits, wie z.B. verschiedene comorbide Konditionen, Depression und die breite Medikation, die mit gastrointestinalen Nebenwirkungen behaftet ist, stellen insbesondere unter praktischen Aspekten eine große Herausforderung dar. Experimentelle und Querschnittsstudien bei HD-Patienten ergaben, dass von der Verwendung bioinkompatibler Membranen signifikante katabole und anorektogene Effekte ausgehen. Bioinkompatible Membranen, wie die zum Zeitpunkt der vorliegenden Studie teilweise verwendeten Cuprophan®-Membranen, können das Komplementsystem aktivieren und einen Netto-Protein-Katabolismus durch Aminosäureverluste induzieren, was in der Summe eine adäquate Nahrungszufuhr verhindert (Ikizler und Hakim, 1996). Zudem konnte gezeigt werden, dass die Verwendung biokompatibler Membranen den Ernährungsstatus von HD-Patienten positiv beeinflusst (Ikizler und Hakim, 1996). Einer der wichtigsten, dialyse-abhängigen Faktoren für einen normalen Appetit und damit Verhinderung der Malnutrition ist die Dialysehäufigkeit. Diese Dynamik des Krankheitsgeschehens verdeutlicht bereits, dass die Aufrechterhaltung eines normalen Thiaminstatus bei der terminalen Niereninsuffizienz in starkem Maße von der Adäquatheit der Dialysebehandlung beeinflusst wird.

Eine Reihe von Faktoren ist dafür verantwortlich, dass die Thiaminzufuhrdaten in Bezug auf ihre Aussagefähigkeit gegenüber den Plasmakonzentrationen oder α -ETK als „weiche Daten“ (Schneider, 1997) bezeichnet werden müssen. Aufgrund der mehrheitlich fehlenden Korrelation zwischen der kalkulierten durchschnittlichen Thiaminzufuhr und den gemessenen biochemischen Parametern ist zu diskutieren, inwieweit Ernährungsprotokolle ein zuverlässiges Erhebungsinstrumentarium zur Bestimmung der Thiaminzufuhr sind. Studien konnten zeigen, dass auf individueller Ebene die Nahrungszufuhr stark vom Erhebungsinstrumentarium beeinflusst wird (Körtzinger et al., 1997). Die hier verwendete Methode des Schätzprotokolls ist ein reaktives Instrumentarium, d.h. sie verlangt von den Untersuchungsteilnehmern ein hohes Maß an Kooperationswillen und beeinträchtigt sie relativ stark (Schneider, 1997). Dies führt dazu, dass einige Personen situationsbedingt weniger essen (Undereating) oder weniger protokollieren (Underreporting). Beide Fehler führen zu einer Unterschätzung der tatsächlich verzehrten Nahrungsmenge. Wenn Versuchsteilnehmer ein 7-Tage-Ernährungsprotokoll führten und gleichzeitig während der Protokollphase ihr Energieumsatz mittels indirekter Kalorimetrie bestimmt wurde, konnte bei 48 % der Versuchsteilnehmer ein Underreporting von 20 % und mehr beobachtet werden (Körtzinger et al., 1997).

Bailey et al. (1994) untersuchten bei einer Gruppe heranwachsender Jungen und Mädchen die Beziehungen zwischen der analysierten und kalkulierten Thiaminzufuhr. Wenngleich die berechneten und analysierten durchschnittlichen Werte der Thiaminzufuhr signifikant zur Gruppe als ganzer korreliert waren, war die mittlere absolute (mg/d) und relative (mg/1000 kcal) Zufuhr, analysiert für 7 Tage, signifikant höher als die berechneten Werte für beide Geschlechter. Letztere variierten zudem für die einzelnen Versuchsteilnehmer zwischen 30 und 143% der analysierten Werte. Als mögliche Gründe werden genannt, dass sich in einigen Fällen die aktuelle Nahrungszufuhr beachtlich von der auf Nährwerttabellen beruhenden kalkulierten unterschied. Es ist auch denkbar, dass die zur Analyse der Nahrungsduplikate verwendete HPLC-Methode einen besseren Nachweis von Thiamin in Lebensmitteln gestattete als die Methoden, auf denen üblicherweise die Angaben in den Nährwerttabellen beruhen (Bailey et al., 1994). Entsprechend wird vom BgVV darauf hingewiesen, dass aufgrund der Natur der Nährstoffdaten des BLS – unbekannte Werte für Lebensmittel werden nicht null gesetzt, sondern durch angenäherte Werte, d.h. überwiegend Durchschnittswerte ähnlicher Lebensmittel, ersetzt – die kalkulierten Ergebnisse in erster Linie als Orientierungshilfe dafür verstanden werden sollten, ob ein Lebensmittel besonders reich oder arm an bestimmten Inhaltsstoffen ist, oder ob durchschnittliche Gehalte vorliegen (BgVV, 1996). Der durch die Einführung von angenäherten Werten entstehende Fehler führt somit zwar auf Individualebene zu beträchtlichen Abweichungen von der tatsächlichen Zufuhr, diese sind jedoch auf Populationsebene geringer als bei einem durch Nullsetzung verursachten Fehler.

Analog zu vorliegender Studie wird in der Literatur bei anderen Bevölkerungsgruppen eine fehlende Korrelation zwischen Thiaminkonzentrationen im Gewebe bzw. zwischen den Zufuhrdaten und ETKA/ α -ETK berichtet (Bailey et al., 1994, Nichols und Basu, 1994). Wie im vorigen Abschnitt angedeutet, bildet ein wichtiger Grund für die fehlende Korrelation zwischen Zufuhrwerten und den biochemischen Parametern deren hohe Variation, so dass Expositionsfaktoren (Thiaminzufuhr) nur ungenau erfasst werden (Schneider, 1997). Weiterhin wirken mit der Urämie assoziierte Störfaktoren, die sowohl auf die Plasmakonzentrationen/ α -ETK einwirken als auch durch anorektogene Einflüsse (urämische Toxine) Änderungen der Thiaminzufuhr bewirken. Wichtig ist auch ein unterschiedlicher Zeitbezug. So beziehen sich die Plasmakonzentrationen auf einen längeren Zeitpunkt als die Zufuhr aus Verzehrsprotokollen weniger Tage. Erfolgt z.B. eine einmalige hohe Thiaminzufuhr, so spiegelt sich diese möglicherweise in der aus Verzehrsprotokollen berechneten Thiaminzufuhr, nicht jedoch in gleichem Umfang in den Plasmakonzentrationen wider. Umgekehrt können hohe Thiaminkonzentrationen bei einer niedrigen Thiaminzufuhr gemessen werden, wenn üblicherweise hohe Mengen Thiamin aufgenommen werden, jedoch zufällig nicht in dem Zeitraum, in dem die Protokollierung erfolgte (Schneider, 1997). Bei anderen Messgrößen (z.B. TDP-

Konzentration in Erythrozyten) wirkt sich der unterschiedliche Zeitbezug noch gravierender aus (Schneider, 1997). Letztlich können die genannten Faktoren zu einer nicht erklärbaren Erhöhung der Variation führen. In ähnlicher Weise sind die überwiegend fehlenden Korrelationen zwischen der Vitamin-C-Aufnahme und der Vitamin-C-Plasmakonzentration (Böhm et al., 1997) bzw. zwischen der Biotinzufuhr und dem korrespondierenden Biotin-Plasmaspiegel (Jung et al., 1998) zu werten.

In der vorliegenden Untersuchung hatten die **Transplantatempfänger** – wenngleich nicht signifikant ($p = 0,07$) – mit 31,2 kcal/kg die höchste relative Energiezufuhr. Obwohl sich im Durchschnitt α -ETK und die Thiaminkonzentration im Plasma zwischen den untersuchten Patientengruppen nicht unterschieden, hatten interessanterweise die Transplantatempfänger trotz der höchsten mittleren Thiaminzufuhr (ohne Supplemente) auch die höchste Prävalenz eines niedrigen Thiaminstatus, wenn α -ETK dafür als alleiniger Index herangezogen wird. So gesehen müssen zunächst Berichte hinterfragt werden, wonach die Transplantation als eine der besten Rehabilitationsmaßnahmen im Bereich des Ernährungszustandes bei chronisch niereninsuffizienten Patienten eingeschätzt wird, zumindest bei isolierter Betrachtung des Thiaminstatus. Der Hauptfaktor, nämlich die urämische Anorexie mit ihren negativen Folgen für den Appetit ist zwar eliminiert, aber letztlich verhindern fehlende Untersuchungen zum Ernährungszustand und zu den Möglichkeiten der Prävention einer Malnutrition an dieser Subpopulation niereninsuffizienter Patienten eine abschließende Bewertung (Ikizler und Hakim, 1996). Ein beachtliches Risikopotenzial bezüglich der Entwicklung eines mangelhaften Ernährungszustandes wohnt dem chronischen Gebrauch von Immunsuppressiva (Corticosteroide) inne, da diese mit einem verstärkten Protein-Katabolismus und erniedrigten viszeralem Proteinkonzentrationen assoziiert sind (Ikizler und Hakim, 1996). Bei Transplantatempfängern mit chronischen Abstoßungsperioden, die diättherapeutisch mit eiweißreduzierten Kostformen behandelt werden müssen, treten die gleichen, in Abschnitt 2.3.1 skizzierten Probleme bezüglich der Versorgung mit Energie und Thiamin auf wie bei konservativ behandelten Patienten. Grundsätzlich besteht noch Forschungsbedarf hinsichtlich des Einflusses anderer Faktoren, wie z.B. Häufigkeit akuter Abstoßungsperioden und Zahl der infektiösen Komplikationen, worin letztlich das Gesamtbild des Ernährungszustands bei Transplantatempfängern determiniert ist. Da in der vorliegenden Untersuchung gezeigt werden konnte, dass bei den Transplantatempfängern durch eine ausreichende Energiezufuhr allein im Durchschnitt auch eine ausreichende Thiaminzufuhr gewährleistet werden kann, scheint der kritische Punkt bei dieser Patientengruppe eher auf der intrazellulären Verfügbarkeit von Thiamin zu liegen, d.h. die Umwandlung in die coenzymatische Wirkform und dessen funktionelle Wirksamkeit im Gewebe sind offenbar vermindert. Die Untersuchungen der Biotin (Jung et al., 1998) und Vitamin-C-Konzentration (Böhm et al., 1997) im Plasma an den gleichen

Transplantatempfängern ergaben gegenüber gesunden Probanden doppelt so hohe bzw. Konzentrationen in gleicher Höhe, woraus zu schließen ist, dass bei Transplantatempfängern, ähnlich wie bei den niereninsuffizienten Patienten, höhere Konzentrationen wasserlöslicher Vitamine in der systemischen Zirkulation vorhanden sind, aus deren Höhe allein noch kein Rückschluss auf den funktionellen Status möglich ist. Da aber jeweils in der vorliegenden und in den zitierten Untersuchungen keine klinischen Zeichen eines funktionellen Defizits festgestellt wurden, muss insgesamt von einem ausreichenden Vitamin-Versorgungszustand ausgegangen werden.

Die **Thiaminausscheidung im Urin** erreichte bei den CRF-Patienten 12,5%, bei den mit 1,5 mg, mit 8,0 mg supplementierten und un-supplementierten Patienten jeweils nur 0,7%, 0,5% und 0,8% und bei den Transplantatempfängern ca. 50% der Thiaminausscheidung von Gesunden (Heseker et al., 1992). Dies verdeutlicht den Status der Nierenfunktion und hat deshalb zur Folge, dass - im Gegensatz zur gesunden Nierenfunktion – der dosisabhängige Parameter Thiaminausscheidung den Thiaminstatus allein nicht korrekt widerspiegeln kann.

Die **Plasmakonzentrationen** der untersuchten Patientengruppen bewegen sich innerhalb des in der Literatur mitgeteilten Wertebereiches (Tab. 2-7). Ein genereller Vergleich der Plasmakonzentrationen wird aber aufgrund der extrem hohen Schwankungsbreite erschwert. Die meisten Untersuchungen schließen deswegen gesunde Kontrollpersonen ein, deren Werte als Referenz dienen. So fanden beispielsweise Pietrzak und Baczyk (1997) Plasmakonzentrationen bei HD-Patienten, die in Höhe durchschnittlicher Vollblutkonzentrationen lagen, jedoch von gesunden Kontrollpersonen nicht signifikant verschieden waren. Die niedrigsten berichteten Werte bei un-supplementierten HD-Patienten stammen von Böttcher (1991), die auch mit den in Abschnitt 4 dargestellten Basalwerten gut übereinstimmen. Diese Variabilität dürfte zum einen in den unterschiedlichen Bestimmungsmethoden begründet sein, deren Spektrum von mikrobiologischen Methoden (DeBari et al., 1984) bis zur nicht-HPLC-gebundenen Thiochrom-Methode (Pietrzak und Baczyk, 1997) reicht. Zum anderen ist vom methodischen Ansatz her der Einfluss einer Thiaminsupplementierung unterschiedlich berücksichtigt worden.

Zunächst stellt sich angesichts der hohen Varianz die Frage, ob die Thiaminkonzentration im zentralen Kompartiment, die dosisabhängig ist, als ein valider Parameter für den Thiaminstatus gelten kann. Hierbei muss bedacht werden, dass infolge der Homöostase-Mechanismen des Körpers die Plasmakonzentrationen in einer nichtlinearen Beziehung zur korrespondierenden Blutzell- oder Liquorkonzentration stehen (Weber, 1991). Bei sehr niedrigen Plasmakonzentrationen (< 10 nmol/l) schützt sich der Körper vor Thiaminverlusten, indem in den Blutzellen überproportional hohe TDP-Spiegel aufrechterhalten werden. Dies wiederum bedingt, dass die Plasmakonzentration oft

nicht repräsentativ für den Wirkort von Thiamin ist, d.h. dort, wo es gespeichert wird. Infolge dessen zählt die Bestimmung des Thiamingehaltes im Plasma nicht zu den empfohlenen Thiamin-Statusuntersuchungen (van den Berg, 1997). Bei verschiedenen Krankheiten jedoch, die zu Veränderungen der zellulären Zusammensetzung des Blutes, wie z.B. Anämie, Entzündungsprozesse, Hypo- oder Hypervolämie, und damit zu einer beträchtlichen Varianz der Thiaminkonzentrationen im Vollblut führen, ist die Bestimmung des Plasma-Thiamingehaltes für das klinische Monitoring die Methode der Wahl, da das Plasma in Bezug auf die Thiaminkonzentration als wesentlich homogener einzuschätzen ist (Weber, 1991). Die Plasmakonzentrationen erwiesen sich deshalb in der vorliegenden Untersuchung als der einzige suszeptible Parameter, um den Einfluss verschiedener Faktoren auf die Veränderung des Thiaminstatus überhaupt nachweisen zu können. Erwartungsgemäß führte die abgestufte Supplementierung bei den HD-Patienten in vorliegender Studie zu entsprechend höheren Konzentrationen, wobei sich aufgrund deren hoher Varianz, insbesondere nach der 14tägigen Unterbrechung der Supplementierung, keine Signifikanz nachweisen ließ. Hier kommt es im Mittel sogar zu einem ca. 30%igen Anstieg der Plasmakonzentration nach der HD-Behandlung. Im deutschsprachigen Raum ist die Studie von Bötticher (1991) bisher die einzige, in der mit Hilfe moderner HPLC-Verfahren gewonnene Daten zum Einfluss der Faktoren Supplementierung und Dialysebehandlung auf die Thiaminkonzentrationen im Plasma von HD-Patienten dargestellt wurden. Beispielsweise konnte dort ebenfalls trotz Supplementierung eine hohe Varianz der Thiaminkonzentrationen im Plasma festgestellt werden. Die im Vergleich zu gesunden Personen signifikant erniedrigten Plasmaspiegel (vgl. Tab. 2-7) stiegen nach dreimonatiger oraler Substitution mit täglich 16 mg T-HCl auf $20,5 \pm 16,5$ ng/ml, bei Substitution mit wöchentlich 30 mg i.v. auf $31,8 \pm 15,3$ ng/ml und bei Kombination des Substitutionsregimes auf $27,3 \pm 15,7$ ng/ml an (Bötticher, 1991). Die durch die Substitution erreichten Plasmaspiegel waren untereinander nicht verschieden. Interessant war, dass bei Änderung des Substitutionsregimes auf täglich 8,0 mg T-HCl p.o. über zwei Monate die Plasmaspiegel auf $7,0 \pm 1,2$ ng/ml sanken. Die Thiaminkonzentrationen blieben danach auch dann auf diesem Niveau, wenn die HD-Patienten statt 8 mg täglich 16 mg p.o. nach jeder Dialysebehandlung, d.h. i.d.R. dreimal wöchentlich, bekamen. Erst die weitere Verringerung der Dosis auf 8 mg nach jeder Dialysebehandlung führte zu niedrigeren Plasmaspiegeln von $5,4 \pm 0,9$ ng/ml. Der Nachteil der Studie ist, dass die Mittelwertunterschiede nur gegenüber gesunden Kontrollpersonen und nicht innerhalb der Gruppen im Zeitverlauf geprüft wurden, so dass keine Aussagen über die Relevanz des offenbar bestehenden Dosiseffektes möglich sind. In der vorliegenden Studie ist die Vergrößerung der Varianz nach 14tägiger Unterbrechung der Thiaminsupplementierung Ausdruck der großen Reaktionsbreite der HD-Patienten. Auch Ramirez et al. (1986a) und Ramirez et al. (1986b) berichteten bei supplementierten HD-Patienten von einer großen Variabilität in der Veränderung der Plasmakonzentration nach der Dialysebehandlung. Obwohl in

einigen Fällen ein ca. 30%iger Abfall gemessen werden konnte, überwog in der Mehrzahl der Fälle ein Anstieg der Thiaminkonzentration im Plasma (Ramirez et al., 1986b). Der Anstieg der Thiaminkonzentration im Plasma ist Ausdruck dafür, dass der Organismus bestrebt ist, die Thiaminverluste während der Dialyse durch rasche Umverteilung aus dem Gewebe zu kompensieren (Ramirez et al., 1986b). Eine weitere Rolle spielen die post-dialytische Hämokonzentration und die Bluttransfusion während der Behandlung (Ramirez et al., 1986b).

Die durchschnittlichen **Aktivierungskoeffizienten der Transketolaseaktivität** der konservativ behandelten CRF-Patienten und der HD-Patienten lagen innerhalb des Referenzbereiches von gesunden Personen (2,5er/97,5er Perzentile: 1,01 bzw. 1,21) (Heseker et al., 1992). Das Verhalten der Transketolase unter urämischen Bedingungen ist allerdings ein komplexes Phänomen (vgl. 4.3). Untersuchungen an chronisch urämischen Patienten mit einmaliger HD-Behandlung pro Woche ergaben tendenziell schlechtere Indizes (1,20) gegenüber gesunden Kontrollpersonen (1,15) (Mestyan et al., 1986). Der relativ höhere Gehalt jüngerer Zellen unter den Erythrozyten bei Nierenpatienten mit einer höheren *in-vitro*-Aktivierungsfähigkeit der ETK erklärt diesen Effekt (Mestyan et al., 1986). Bedingt durch die hämatopoetische Störung ist die Lebenszeit der Erythrozyten verkürzt, auf deren erhöhter Abbaurate das Knochenmark mit einer stärkeren Erythropoese reagiert (Mestyan et al., 1986). Die Implikationen eines mangelhaften Thiaminstatus (hoher α -ETK-Wert) wurden vielfach im Zusammenhang mit der Manifestation der urämischen Polyneuropathie (UPN) diskutiert, da sie fast regelmäßig mit einem defizitären Thiaminversorgungszustand assoziiert ist (Pietrzak und Baczyk, 1998). Von Bedeutung ist hierbei, dass die Existenz eines dialysierbaren Hemmstoffes der ETK unbekannter Natur im Serum von urämischen Patienten nachgewiesen werden konnte, der mit dem Grad der manifesten UPN korrelierte (Lonergan, 1970, Lonergan et al., 1971, Lange et al., 1971). Der Transketolaseaktivität wird eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der strukturellen Integrität der Myelinscheiden zugeschrieben (Lonergan, 1970, Dreyfus, 1976). Lonergan et al. (1971) postulierten, dass zwischen der Hemmung der Transketolase bei urämischen Patienten und der UPN eine kausale Beziehung existiert, die auch die auffällige Ähnlichkeit zwischen der UPN und der bei Thiaminmangel auftretenden neurologischen Symptome erklären kann. Der Pathomechanismus der UPN ist nicht vollständig aufgeklärt, wird jedoch primär dem Ergebnis metabolischer Störungen zugerechnet; dabei wird aufgrund der nachgewiesenen Beziehung zwischen renaler Osteodystrophie und der autonomen Neuropathie bei Urämie eine ätiologische Rolle des sekundären Hyperparathyreoidismus diskutiert (Kempler et al., 1997). Andere Untersuchungen zeigten bei HD-Patienten signifikant bessere Indizes (1,06) gegenüber gesunden Kontrollpersonen (1,13) (Kuriyama, 1980). Die analog zu der vorliegenden Studie beobachteten relativ hohen Vollblut- und Plasmathiamin Spiegel, verbunden mit mangelnder *in-vitro*-Stimulierbarkeit der ETK, zeigen deshalb, dass die

Hemmung der ETK bei Urämikern nicht durch die defizitäre Coenzymättigung oder mangelnde Coenzym-Verfügbarkeit verursacht wird, sondern es ist eher davon auszugehen, dass durch nach wie vor unbekannte Mechanismen das Apoenzym selbst gehemmt wird (Kuriyama, 1980). Dies verdeutlicht, dass α -ETK als alleiniger Index des Thiaminstatus bei urämischen Patienten zu falschen Ergebnissen führen kann, da vom Thiaminstatus unabhängige Faktoren die ETK beeinflussen können. Hinzu kommt, dass es bei der Interpretation von Messwerten, die verschiedene Grade eines Mangels anzeigen, Schwierigkeiten gibt, obwohl die Bestimmung der Transketolaseaktivität zu den empfohlenen Methoden der Bestimmung des Thiaminstatus zählt (van den Berg, 1997). Die Einordnung eines funktionellen Vitaminstatus-Parameters wie α -ETK als Index eines „Mangels“ basiert auf der Festlegung eines Grenzwertes, der in der Regel die 2,5er oder 97,5er Perzentile einer Messwertverteilung bildet, die bei einem „scheinbar gesunden“ Referenzkollektiv existiert. Das heißt, die Festlegung von Grenzwerten des Versorgungszustandes orientiert sich nicht an physiologischen Verhältnissen sondern an statistischen Kriterien. Deswegen zeigt ein Vergleich der Grenzwerte für einen Thiaminmangel zwischen verschiedenen nationalen Erhebungen erhebliche Differenzen: er reicht von 1,18 (Frankreich) bis 1,22 (Niederlande) (van den Berg, 1997). Nach Fogelholm et al. (1992) und Fogelholm et al. (1993) sind „marginale“ α -ETK-Werte im Bereich von 1,15 bis 1,35 ohne klinische Anzeichen eines Thiaminmangels mit Vorsicht zu interpretieren.

Die Thiaminkonzentrationen in Körperflüssigkeiten werden strikt vom Ernährungszustand des Individuums bestimmt und unterliegen deshalb einer großen Variabilität. Ein Einblick in die dynamische Regulation (Körperpools, Kompartimentierung, Ausscheidung und Verteilungsvorgänge) bei chronischer Niereninsuffizienz wird daher erst möglich, wenn die Bestimmung des Thiaminstatus auf mehreren Ansätzen beruht. Studien zur langfristigen Entwicklung des Thiaminstatus unter chronischer Dialysebehandlung, die mehrere Parameter bestimmten (z.B. TDP-Gehalt in den Erythrozyten und Gesamthiamingehalt im Plasma), konnten deshalb zeigen, dass zwar die Plasmakonzentrationen innerhalb von 2 Wochen nach Beendigung der Supplementierung um ca. die Hälfte abfielen, die TDP-Konzentration in den Erythrozyten aber konstant blieb (Ramirez et al., 1986b). Der gute Thiamin-Versorgungszustand der urämischen Patienten, die in der Regel eine lange Geschichte unzureichender Nahrungsaufnahme haben, was wiederum unweigerlich einen Thiaminmangel nach sich zieht, kann nur mit der Blockade der renalen Ausscheidungsfähigkeit erklärt werden, die sich in höheren Plasmakonzentrationen und intrazellulärem Einschluss von TDP manifestiert (Rizzo, 1969, Frank et al., 1999). HD-Patienten, die mit 15 mg T-HCl nach jeder Dialysebehandlung (dreimal wöchentlich) supplementiert wurden, hatten einen mittleren α -ETK von 1,11, was mit den vorliegenden Ergebnissen übereinstimmt (Allman, 1989). Eine Unterbrechung der Supplementierung führte zu keiner Veränderung von α -ETK und zeigt, dass eine ausreichende Ge-

webesättigung trotz variabler Plasmakonzentrationen gegeben ist (Allman, 1989). Ebenfalls gleichlautend sind die Ergebnisse von Kopple et al. (1972), die keine Veränderung der ETKA nach einer einzelnen HD-Behandlung sowie keinen Einfluss des Membrantyps auf die ETKA feststellten. Da α -ETK eher ein Indikator der langfristigen Thiaminversorgung ist, war möglicherweise die Dauer der Unterbrechung der Supplementierung in vorliegender Studie zu kurz, um einen Einfluss der Dialyse sichtbar zu machen, da die Coenzymättigung nach langen Supplementierungsphasen noch besteht.

Auch ohne, dass in der vorliegenden Untersuchung die erythrozytäre TDP-Konzentration gemessen wurde, zeigt die gemeinsame Betrachtung der Plasmakonzentrationen und des funktionellen Parameters α -ETK, dass bei chronisch stabilen Nierenpatienten - unter der Voraussetzung einer guten diätetischen Betreuung - ohne Supplementierung ein adäquater Thiaminstatus aufrecht erhalten werden kann, der sich überdies bei chronischer HD-Behandlung kurzfristig nicht verschlechtert. Bei der Ersatztherapie mittels HD zeichnen sich trotz der erheblichen Varianz der Thiaminplasmaspiegel dialysebedingte Verluste ab, die den täglichen Thiaminverlust über den Urin nicht nennenswert übersteigen und zwischen zwei Einzelbehandlungen infolge der schnellen Mobilisation aus dem Gewebe ausgeglichen werden. Eine getrennte Betrachtung der dabei wirkenden Faktoren zeigt, dass zumeist die Art der verwendeten Membran einen signifikanten Einfluss auf das Ausmaß der Reduktion der Plasmaspiegel ausübte: bei den supplementierten HD-Patienten führten die verwendeten Membranen mit höherer Molekülausschlussgrenze im Vergleich zu den Membranen mit niedriger Ausschlussgrenze zu einer stärkeren Reduktion der Plasmakonzentrationen, die auch 44 Stunden nach der Behandlung erniedrigt blieben. Dies wird durch die Untersuchungen von Descombes et al. (1993) bestätigt, die beobachteten, dass von verschiedenen auf den Thiaminstatus wirkenden Faktoren lediglich ein signifikanter Einfluss des Membrantyps gesichert werden konnte. Bei den un-supplementierten HD-Patienten in vorliegender Studie konnte dieser Einfluss wegen der großen Streuung nicht gesichert werden. Von der Verwendung von Membranen höherer Molekülausschlussgrenze scheint dann ein gewisses Gefährdungspotenzial bezüglich des Thiaminstatus auszugehen, wenn langfristig die diätetische Betreuung nicht gesichert ist. Da die chronische HD-Behandlung dennoch zu einer verminderten Gesamtenergie- und - damit verbunden - geringen Thiaminzufuhr führt, die im Zusammenspiel mit dialysebedingten Thiaminverlusten das Risiko einer Hypovitaminose verstärkt, ist zur langfristigen Sicherung der Thiaminversorgung der Patienten eine Supplementierung zu empfehlen, insbesondere dann, wenn zur Behandlung High-Flux-Membranen eingesetzt werden. Eine Supplementierung in Höhe der empfohlenen Zufuhr für gesunde Erwachsene nach jeder Einzelbehandlung ist dafür allerdings ausreichend.

6 Relative Bioverfügbarkeit von Benfotiamin im Liquor cerebrospinalis

Ziel der Studie war es, die Pharmakokinetik von Thiamin nach oraler Applikation von BTMP mit der nach intramuskulärer Applikation von T-HCl im Liquor cerebrospinalis zu vergleichen. Entsprechend der Bekanntmachung des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (1998) sollten damit Erkenntnisse zur Wirksamkeit von Thiamin unter den Bedingungen der routinemäßigen Anwendung in Gruppen, die in klinische Prüfungen bisher nicht eingeschlossen wurden, erweitert werden. Das Nebenziel der Studie bestand in der Bestimmung der physiologischen Konzentration und des Verteilungsmusters der Thiaminphosphorsäureester im Liquor.

6.1 Material und Methoden

6.1.1 Studiendesign

Definitionsgemäß erfolgte die Prüfung als Anwendungsbeobachtung⁵ (AWB, s. Glossar) in Form einer zweiarmigen, prospektiven, vergleichenden Studie in einem Zentrum mit hoher Lumbalpunktionsfrequenz⁶. Die Patienten erhielten in der Reihenfolge ihrer Aufnahme eine Patientenummer. Die Zweiarmigkeit wurde dadurch gewährleistet, dass auf jeweils zwei Stationen die in Tab. 6-1 dargestellte Prüfmedikation p.o. (A) bzw. i.m. (B) verabreicht wurde.

Tabelle 6-1 Prüfmedikation

Verum A:	Verum B:
„milgamma® 150 Dragees“ <i>1 Dragee enthält:</i> 150 mg <i>S</i> -Benzoylthiamin-O-monophosphat (Benfotiamin) (übliche Handelsware) Hersteller: Wörwag Pharma GmbH	„Betabion, Injektionslösung“ <i>1 Ampulle (2 ml) enthält:</i> 100 mg Thiaminchloridhydrochlorid (übliche Handelsware) Hersteller: Merck Produkte

6.1.1.1 Patientenauswahl

In die AWB aufgenommen wurden 42 männliche stationäre Patienten, die ein repräsentatives Klientel der neurologischen Krankenhauseinheit bildeten und bei denen eine einmalige Lumbalpunktion aus diagnostischen Gründen, d.h. bei allen akuten und chronischen neurologischen Er-

⁵ Gemäß der 1986 vorgenommenen Anfügung von Abs. 6 an § 67 Arzneimittelgesetz (AMG) wurden Untersuchungen verschiedenster Zielsetzung mit dem Begriff „Anwendungsbeobachtung“ belegt.

⁶ Neurologische Abt. der Paracelsus-Klinik Zwickau

krankungen, ohnedies vorgenommen werden muss. Im Einzelnen waren dies: Neuroborreliose, Lähmungs-/Schmerzzustände bei Störungen der peripheren Nerven, fokale Dystonien (Schiefhals, Augenmuskelspasmen u.a.) sowie neurologische Störungen bei Erkrankungen der Wirbelsäule (Wurzelirritationssyndrom). Die Patienten erfüllten die folgenden Sollvorgaben:

- Alter: 18 bis 40 Jahre
- Gewicht: 70-90 kg ($\pm 10\%$)
- Ausschlusskriterien: Kontraindikation gegen Benfotiamin/Thiamin, Patienten mit täglicher Vitaminsubstitution, Patienten mit Kontraindikation gegen eine Lumbalpunktion, Patienten mit beeinträchtigter Blut-Hirn-Schranke (Meningitis), Patienten mit Gerinnungsstörungen, Drogen- und Alkoholabusus, Patienten mit alkoholischer Polyneuropathie, $RR_{\text{sys.}} < 100 \text{ mm Hg} / > 160 \text{ mm Hg}$, $RR_{\text{diast.}} > 95 \text{ mm Hg}$, Pulsfrequenz $< 45 \text{ min}^{-1} / > 100 \text{ min}^{-1}$

6.1.1.2 Aufklärung, Einwilligung und rechtliche Regelungen

Die Patienten erhielten in der Reihenfolge ihrer Einwilligung eine Patientennummer. Bezüglich der Therapieentscheidung war eine über die übliche ärztliche Aufklärungspflicht hinausgehende Information des Patienten nicht notwendig (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 1998). Gleiches galt für die Dokumentation, da die Daten im Sinne des Datenschutzes gehandhabt wurden. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der Empfehlung zur Planung und Durchführung von AWB's (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 1998) und der gültigen Berufsordnung der Ärzte durchgeführt. Die AWB wurde darüber hinaus gemäß § 67 Abs. 6 AMG⁷ bei den zuständigen Behörden angemeldet.

6.1.1.3 Einzelverlauf der Studie

Unabhängig von der Vormedikation wurden zunächst bei 20 Patienten (Gruppe III) die routinemäßig gewonnenen Liquorproben hinsichtlich der Höhe der physiologischen Thiaminkonzentration und des Verteilungsmusters der Thiaminphosphatester bestimmt (Tab. 6-2). Jeder Patient aus Gruppe I und II wurde nur *einmal* punktiert und erhielt routinemäßig zum Zeitpunkt der Liquorentnahme auch eine Venenpunktion zur Blutentnahme. Der Nüchternwert der Liquorproben wurde daher festgelegt als Mittelwert von Gruppe III. Aus Tab. 6-2 geht hervor, dass bei jeweils drei verschiedenen Patienten – im Unterschied zur Lumbalpunktion - immer zwei Blutentnahmen stattfanden: vor Applikation (Nüchternwert) und zum Entnahmezeitpunkt.

⁷ Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (AMG) vom 17.8.1996 idF vom 19.10.1994 (BGBl. I Nr. 73).

Tabelle 6-2 Organisationsschema zur Probengewinnung

Gruppe und Applikation	Anzahl der Patienten pro Zeitpunkt	Entnahmezeiten	Liquor	Blut
I 1 Dragee Verum A (p.o.)	3 (insgesamt 21)	0,3; 0,6; 1,0; 3,0; 6,0; 10,0 und 24 h nach Applikation	Lumbalpunktion zwischen 3. und 5. Lendenwirbel mit SPOTTE-Nadel, Menge: 3 ml in Neutralgefäß, Versand auf Trockeneis	10 ml mittels heparinierter Kanüle in heparinisierte Monovetten, davon werden 3 ml Vollblut sofort bei -30°C eingefroren, 7 ml für Plasmagewinnung
II 1 Ampulle Verum B (i.m.)	3 (insgesamt 21)	0,3; 0,6; 1,0; 3,0; 6,0; 10,0 und 24 h nach Applikation		analog Gr. I
III	20	nicht festgelegt		analog Gr. I

Das gewonnene Blut wurde gemäß dem Schema im Anhang für die Plasmagewinnung aufbereitet. Die Einnahme der Prüfmedikation erfolgte zusammen mit 150 ml Wasser (Verum A) bzw. wurde in den *Gluteus maximus* injiziert (Verum B). Der Zeitpunkt der Nüchternblut- und Liquorentnahme bei Gr. I und II lag zwischen 22.00 Uhr und 10.35 Uhr (meist 7.30-8.00 Uhr). Die Patientendaten wurden anonymisiert in einem dafür vorgesehenen Erhebungsbogen eingetragen. Dieser enthielt Patientenummer, Applikationsdatum und -zeit, Zeitpunkt der Lumbal- und Venenpunktion und das Beschriftungsschema der Proben.

6.1.2 Analytische Methoden

Die Konzentrationen von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern in Blut, Plasma und Liquor wurden mit der in Abschnitt 4.1.2 beschriebenen HPLC-Methode quantifiziert.

6.1.3 Pharmakokinetische Methoden

Analog zur Vorgehensweise in Abschnitt 4 wird die Bioverfügbarkeit anhand der sich aus der *kompartment-unabhängigen* Berechnung ergebenden Parameter (1) und die Verteilung in Körpergeweben nach den sich aus der *kompartmentgebundenen* Berechnung (2) ergebenden eingeschätzt. (1) Die pharmakokinetischen Parameter, die sich direkt auf die Bioverfügbarkeit der verabreichten Substanzen beziehen, wurden aus dem mittleren Konzentrations-Zeit-Verlauf der Patienten im Blut, Plasma und Liquor berechnet. Als Hauptzielkriterium der Bioverfügbarkeit diente wiederum die AUC des Gesamtthiamins, die aus den Flächeninhalten des Trapezes unter dem Polygonzug, der die Konzentrationszeitpunkte verbindet, berechnet wurde (Anonym, 1987). Dabei wurde für die Berechnung der Gesamtthiaminkonzentration der molekulare Anteil des Thiamins in den gemessenen Thiaminphosphorsäureestern aufsummiert (Thiamin^Σ). Für die Berechnung der AUC im Blut wurden die

vor Applikation der Prüfsubstanzen gemessenen Werte der 21 Patienten je Gruppe gemittelt und vom Mittelwert der Konzentration zum jeweiligen Messzeitpunkt subtrahiert. Weiterhin wurde zur Bewertung der Bioverfügbarkeit das Ausmaß des absoluten maximalen Wirkstoffkonzentrationsanstiegs (C_{\max}) und die Zeitdauer bis zum Erreichen des Konzentrationsmaximums (t_{\max}) erfasst. Die relative Bioverfügbarkeit F von Thiamin aus Verum A ergibt sich aus $F = AUC/AUC_{i.m.}$.

(2) Nach Formulierung eines geeigneten biokinetischen Modells wurde jeweils der mittlere Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin $^{\Sigma}$ im Plasma und Liquor sowie von TDP im intrazellulären Kompartiment (Blut) angepasst und die Modellparameter berechnet. Die Konzentrationen von TDP gingen auf Basis ihres molekularen Thiaminanteils in die Modellrechnung ein. Alle verwendeten Symbole und ihre Bedeutung sind in Tab. 4-12 aufgeführt. Das biokinetische Modell, welches die Verteilung, Metabolisierung und Elimination der Thiaminderivate beschreibt, ist in Abb. 6-1 dargestellt.

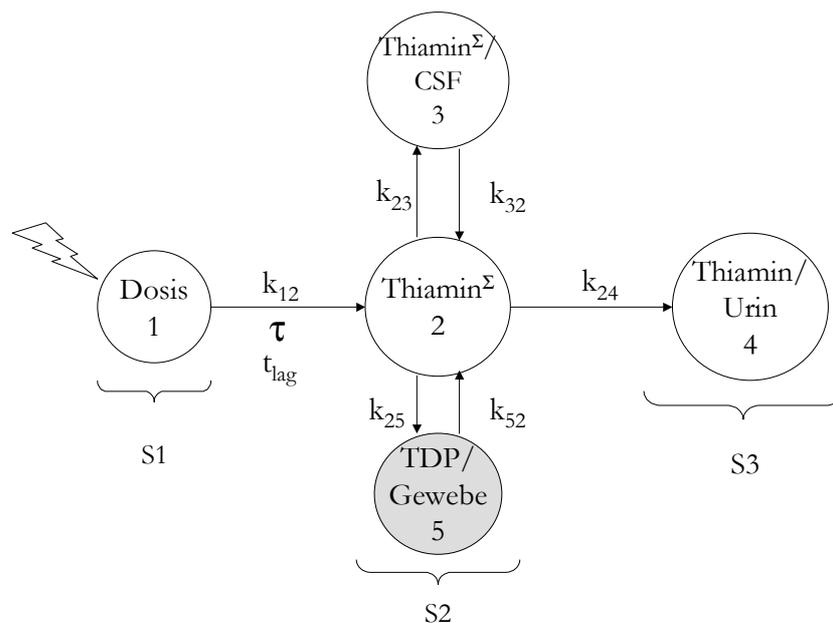


Abb. 6-1 Drei-Kompartiment-Modell mit Applikations- und Eliminationskompartiment

Es handelt sich um ein offenes Drei-Kompartiment-Modell mit linearen Eigenschaften (vgl. Abschnitt 4.1.3.2), wobei das zentrale Kompartiment und die zwei peripheren Kompartimente zum Submodell S2 (Disposition) zusammengefasst sind (S1 = Applikationskompartiment, S3 = Elimination). BTMP (Verum A) gelangt nach oraler Gabe in den Gastrointestinaltrakt (Kompartiment 1 = S1), die absorbierte Dosisfraktion F (Thiamin bzw. das aus BTMP entstehende Thiamin) wird mit k_{12} ($=k_a$) ins Kompartiment 2 verteilt (entspricht Plasma = zentrales Kompartiment). T-HCl (Verum B) wird durch die Injektion im Interstitium der Muskulatur deponiert, wo es von dort ins

Blut übertritt, um weiter in die extravasalen Kompartimente zu gelangen. Bis auf die Eingangskompartimente unterscheidet sich die Disposition von Verum A und B nicht. Thiamin wird mit k_{13} als TDP ins Gewebe (Kompartiment 5) verteilt, welches über Dephosphorylierungsprozesse im Austausch mit dem zentralen Kompartiment steht. Gleichzeitig gelangt Thiamin mit k_{23} über die Blut-Liquor-Schranke in die Cerebrospinalflüssigkeit (CSF, Kompartiment 3). Die Kompartimente 2,3 und 5 werden zum Submodell S2 zusammengefasst. Der Koeffizient k_{24} kennzeichnet den Massentransfer in ein gedachtes Eliminationskompartiment (Urin, S3). Die biokinetischen Abläufe der Konzentrationen lassen sich wiederum durch ein lineares Differentialgleichungssystem beschreiben (Gl. 6.1-6.5).

$$\frac{dy_1}{dt} = -k_{12} \cdot y_1 \quad (6.1)$$

$$\frac{dy_2}{dt} = k_{12} \cdot y_1 - K_2 \cdot y_2 + k_{32} \cdot y_3 + k_{52} \cdot y_5 \quad (6.2)$$

$$\frac{dy_3}{dt} = k_{23} \cdot y_2 - k_{32} \cdot y_3 \quad (6.3)$$

$$\frac{dy_4}{dt} = k_{24} \cdot y_2 \quad (6.4)$$

$$\frac{dy_5}{dt} = k_{25} \cdot y_2 - k_{52} \cdot y_5 \quad (6.5)$$

Hierin ist $K_2 = k_{23} + k_{24} + k_{25}$. Die Berechnung abgeleiteter pharmakokinetischer Größen erfolgte wie in Abschnitt 4.1.3.2 beschrieben. Da keine diurnale Schwankung des physiologischen Tagesprofils der in die Berechnung eingehenden Substanzen angenommen werden kann, wurde bei den Blut- und Plasmaproben jeweils der zum Zeitpunkt $t = 0$ gemessene Nüchtern- (Basis) Wert als konstanter Wert abgezogen. Da das Rückenmark nur einmal nach Applikation der Prüfmedikation punktiert wurde, wurde bei den Liquorproben der in Gr. III bestimmte Mittelwert der physiologischen Konzentration als konstanter Nüchternwert abgezogen. Alle Messreihen gingen mit der gleichen Gewichtung (Faktor 1,0) in die Anpassung ein. Sämtliche Berechnungen wurden mit dem Softwarepaket TOPFIT, Version 2.0, vorgenommen (Heinzel et al., 1993).

6.1.4 Statistische Methoden

Für die deskriptive Statistik wurden Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Beziehungen zwischen den Variablen wurden mittels Regressionsanalyse unter der Prozedur CURVEFIT analysiert. Alle Variablen wurden grundsätzlich vor der Anwendung schließender statistischer Verfahren auf ihre Normalverteilung mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstests überprüft. Für die Prüfung auf Gleichheit der Varianzen wurde der Levene-Test angewendet. Anschließend erfolgte für jeden Probenentnahmetermin der Gruppenvergleich der Thiaminkonzentrationen in Blut, Plasma und Liquor mit Hilfe des T-Tests nach Student für unabhängige Stichproben (Gruppierungsvariable: Prüfmedikation). Unterschiede zwischen den in Gruppe III bestimmten basalen Konzentrationen in Plasma und Liquor wurden mit dem T-Test nach Student für gepaarte Stichproben überprüft. Als Irrtumswahrscheinlichkeit wurde $\alpha = 0,05$ festgelegt. Die Erstellung von Histogrammen und Streudiagrammen sowie alle genannten statistischen Berechnungen erfolgten mit SPSS für Windows™, Release 10.0.5 (November 1999, SPSS Inc., Chicago).

6.2 Ergebnisse

6.2.1 Basiswerte in Vollblut, Plasma und Liquor

Die physiologischen Konzentrationen von Gesamthiamin, Thiamin und seinen Phosphorsäureestern in Vollblut, Plasma und Liquor zeigten keine signifikante Abweichungen von der Normalverteilung (Abb. 6-2 und 6-3).

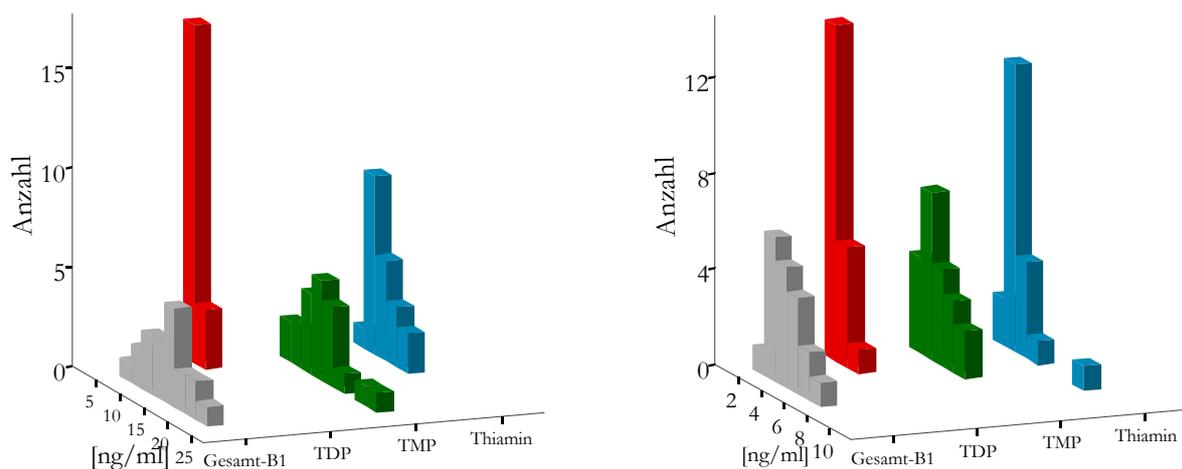


Abb. 6-2 Histogramm der physiologischen Thiaminkonzentration im Liquor (links) und Plasma (rechts) vor Applikation der Prüfmedikation ($N=20$)

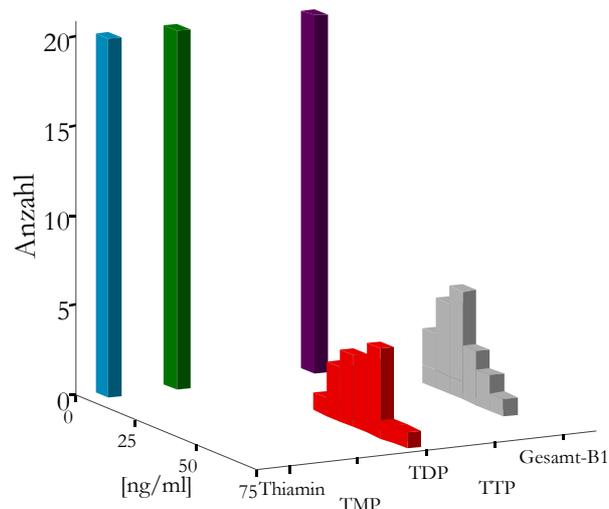


Abb. 6-3 Histogramm der physiologischen Thiaminkonzentration im Vollblut vor Applikation der Prüfsubstanzen ($N=20$)

Im Liquor gruppieren sich beim TMP die Beobachtungen dichter um den Mittelwert als bei der Normalverteilung und haben längere Flügel (Kurtosis = $1,47 \pm 0,99$), während sich die Beobachtungen beim freien Thiamin weniger dicht zusammen gruppieren und kürzere Flügel haben (Kurtosis = $-0,58 \pm 0,99$).

Tabelle 6-3 Basiswerte von Thiamin, TMP, TDP, TTP und Gesamtthiamin in Vollblut, Plasma und Liquor[†]

Substanz	Mittelwert \pm SD (ng/ml)	Wertebereich (ng/ml)
<i>Liquor:</i>		
Thiamin	5,33 \pm 2,47***	2,10 - 10,40
TMP	10,35 \pm 4,59***	3,80 - 22,19
TDP	1,36 \pm 0,75**	0,00 - 2,66
Thiamin ^Σ	14,34 \pm 5,20***	6,44 - 27,38
<i>Plasma:</i>		
Thiamin	1,93 \pm 1,53	0,53 - 7,65
TMP	2,16 \pm 1,04	0,00 - 4,51
TDP	0,78 \pm 0,65	0,00 - 2,35
Thiamin ^Σ	4,11 \pm 2,22	1,75 - 11,93
<i>Vollblut:</i>		
Thiamin	1,20 \pm 0,87	0,10 - 4,11
TMP	1,20 \pm 0,48	0,43 - 2,16
TDP	53,93 \pm 10,11	38,25 - 75,16
TTP	0,53 \pm 0,69	0,00 - 2,36
Thiamin ^Σ	36,19 \pm 7,07	26,44 - 52,12

[†] Gruppe III, ** hoch signifikant ($p < 0,01$), *** höchst signifikant ($p < 0,001$) verschieden von der Plasmakonzentration (gepaarter T-Test mit zweiseitiger Fragestellung)

Das Schiefemaß beträgt für Thiamin, TMP, TDP und Thiamin^Σ im Liquor in der angegebenen Reihenfolge (Mittelwert ± Standardfehler) $0,71 \pm 0,51$ / $0,96 \pm 0,51$ / $-0,12 \pm 0,51$ und $0,74 \pm 0,51$ und verdeutlicht, da die Abweichung vom Standardfehler weniger als doppelt so groß ist, dass keine Abweichung von der Symmetrie vorliegt. Im Liquor waren Thiamin und TMP die mengenmäßig überwiegenden Verbindungen. Beide hatten im Liquor signifikant höhere Konzentrationen als im Plasma (Tab. 6-3). Das mittlere Thiamin/TMP-Verhältnis im Liquor betrug $0,62 \pm 0,53$. TTP konnte hier nur bei zwei Patienten nachgewiesen werden, deren Konzentration jedoch unterhalb der Bestimmungsgrenze lag. Ebenfalls konnte in 85 % der Plasmaproben kein TTP nachgewiesen werden. Zwischen der Thiaminkonzentration im Plasma und der korrespondierenden Thiaminkonzentration im Liquor besteht vor Applikation der Prüfmedikation eine logarithmische Beziehung ($y = 2,05 \ln x + 4,35$; $r^2 = 0,22$, $p = 0,035$), obwohl die Daten auch an eine lineare Funktion angepasst werden können ($y = 0,74 x + 3,88$, $r^2 = 0,21$, $p = 0,04$, Abb. 6-4).

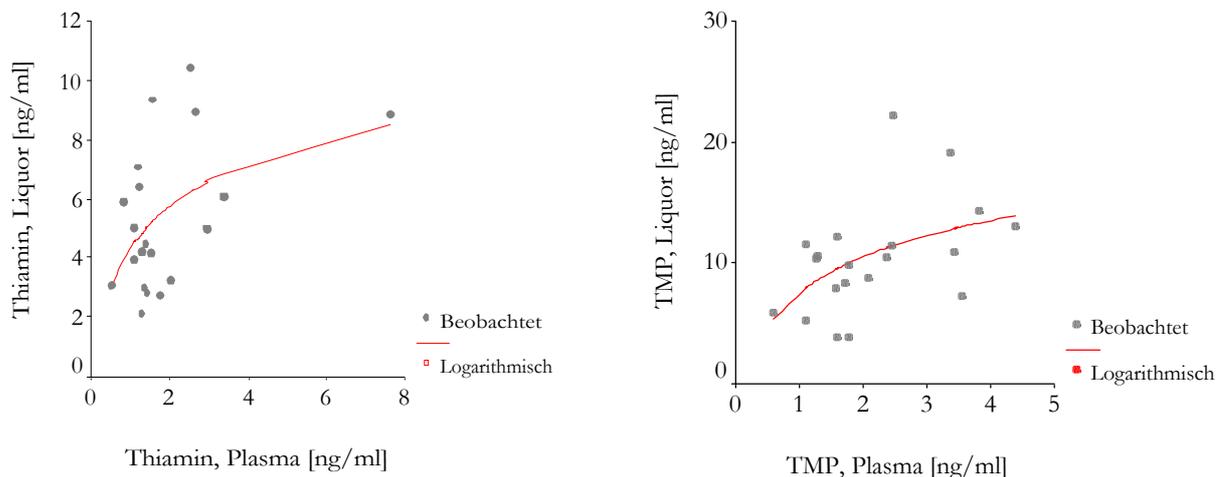


Abb. 6-4 Beziehungen zwischen der Thiamin- (links) und TMP-Konzentration (rechts) im Plasma und den korrespondierenden Konzentrationen im Liquor bei 20 Patienten mit neurologischen Erkrankungen verschiedener Genese

Gleichzeitig besteht eine logarithmische Beziehung zwischen der TMP-Konzentration im Plasma und der im Liquor ($y = 4,31 \ln x + 7,52$, $r^2 = 0,22$, $p = 0,035$, Abb. 6-4). Auch hier können die Daten an eine lineare Funktion angepasst werden ($y = 2,03 x + 5,95$, $r^2 = 0,21$, $p = 0,04$). Zwischen der Thiamin^Σ – Konzentration im Plasma und der entsprechenden Liquorkonzentration gibt es ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang, der sich im Regressions-Plot mit folgender Gleichung beschreiben lässt: $y = -0,1 x^3 + 1,77 x^2 - 6,95 x + 19,57$ ($r^2 = 0,38$, $p = 0,049$, Abb. 6-5). Die Daten können überdies per linearer ($r^2 = 0,27$), logarithmischer ($r^2 = 0,29$) oder auch exponentieller ($r^2 = 0,25$) Regression angepasst werden.

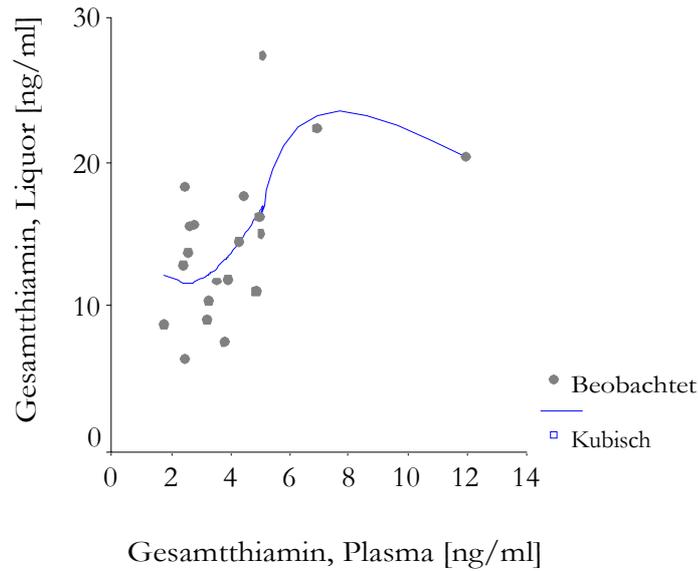


Abb. 6-5 Beziehung zwischen der Thiamin^E-Konzentration im Plasma und der korrespondierenden Konzentration im Liquor bei 20 Patienten mit neurologischen Erkrankungen verschiedener Genese

6.2.2 Konzentrations-Zeit-Verläufe in Vollblut, Plasma und Liquor

Erwartungsgemäß konnte nach i.m.-Applikation von T-HCl ein unverzüglicher Anstieg der Thiaminkonzentration in Vollblut (Abb. 6-7) und Plasma (Abb. 6-9), verglichen mit der oralen Applikation von BTMP (Abb. 6-6 bzw. 6-8), nachgewiesen werden. Abb. 6-10 und 6-11 zeigen den Konzentrations-Zeit-Verlauf im Liquor. Die Ergebnisse des Gruppenvergleichs sind tabellarisch dargestellt (Tab. 6-4 bis 6-6).

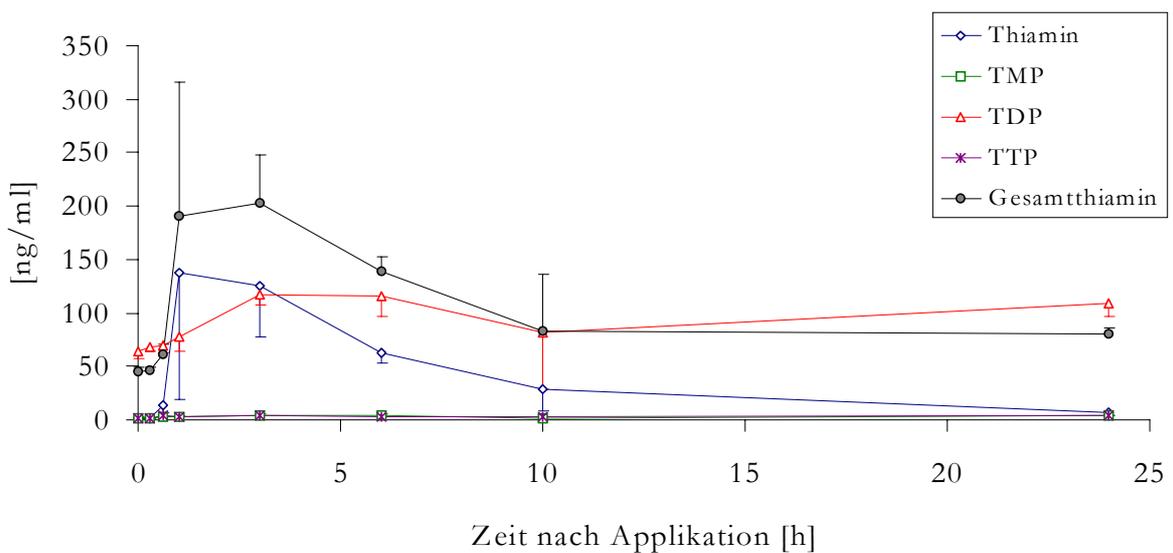


Abb. 6-6 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut nach oraler Gabe von 321 µmol BTMP

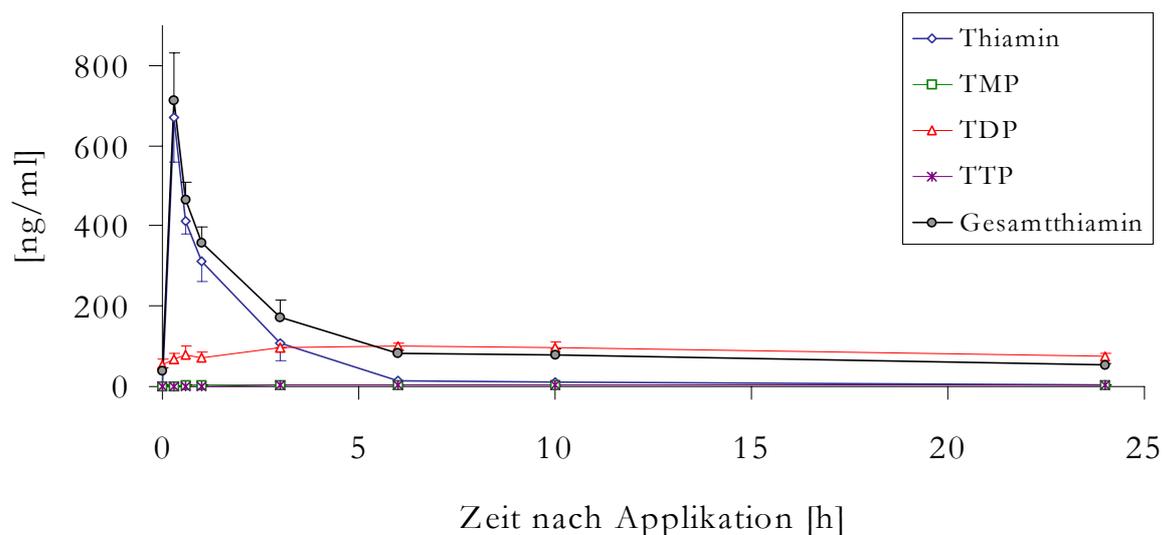


Abb. 6-7 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut nach i.m. Applikation von 296 µmol T-HCl

Tabelle 6-4 Mittlere Konzentrationen (Standardabweichung) von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Vollblut (ng/ml)

Zeit nach Applikation (h)	Prüfmedikation									
	T-HCl 296 µmol i.m. (78,9 mg Thiamin)					BTMP 321 µmol p.o. (85,7 mg Thiamin)				
	Thiamin	TMP	TDP	TTP	Thiamin ^Σ	Thiamin	TMP	TDP	TTP	Thiamin ^Σ
0†	1,40 (0,44)	1,78 (0,62)	55,6 (12,6)	1,63 (1,07)	38,4 (7,69)	1,80 (0,78)	1,95 (0,83)	64,7 (7,14)*	1,89 (0,93)	44,8 (4,60)**
0,3	669,3 (110,6)	0,99 (0,36)	68,4 (15,5)	0,65 (1,13)	713,2 (118,4)	1,91 (1,11)**	0,98 (0,53)	67,8 (3,55)	1,92 (1,34)	46,2 (2,86)*
0,6	413,3 (31,7)	2,85 (0,51)	80,4 (20,3)	0,18 (0,31)	465,9 (44,6)	14,0 (6,56)**	2,16 (0,65)	69,3 (6,89)	3,61 (1,32)*	61,0 (10,0)**
1,0	310,3 (46,8)	1,87 (0,30)	71,5 (13,4)	0,94 (0,25)	357,0 (42,6)	137,8 (118,9)	3,23 (0,26)**	77,5 (13,2)	0,95 (0,55)	190,0 (126,4)
3,0	108,3 (44,1)	3,13 (0,66)	95,6 (2,42)	2,56 (0,06)	171,9 (43,4)	125,3 (47,6)	3,48 (1,79)	116,5 (8,46)*	3,52 (0,88)	202,8 (44,9)
6,0	16,1 (3,45)	3,16 (0,92)	100,0 (8,87)	2,78 (0,84)	82,6 (8,01)	62,0 (8,39)**	3,89 (1,30)	115,8 (19,7)	3,29 (0,13)	139,3 (13,9)**
10,0	11,9 (8,78)	3,58 (0,34)	97,6 (12,9)	4,21 (0,48)	77,9 (16,9)	29,0 (20,3)	1,55 (0,65)**	81,6 (53,0)	3,14 (2,77)	83,0 (52,8)
24,0	2,28 (0,42)	2,07 (1,43)	74,8 (6,67)	2,84 (0,56)	52,2 (3,93)	6,76 (2,46)	3,81 (0,62)	108,9 (12,0)*	4,22 (0,66)	80,1 (5,81)**

† N = 21 (BTMP) bzw. N = 19 (T-HCl); * p < 0,05, ** p < 0,01 (zweiseitige Fragestellung) berechnet mittels T-Test für unabhängige Stichproben

Bei einem Patienten wurden 3 Stunden nach Gabe von BTMP hohe TMP-Gehalte (207 ng/ml) gemessen, was die hohe Varianz zu diesem Messzeitpunkt erklärt (Abb. 6-8).

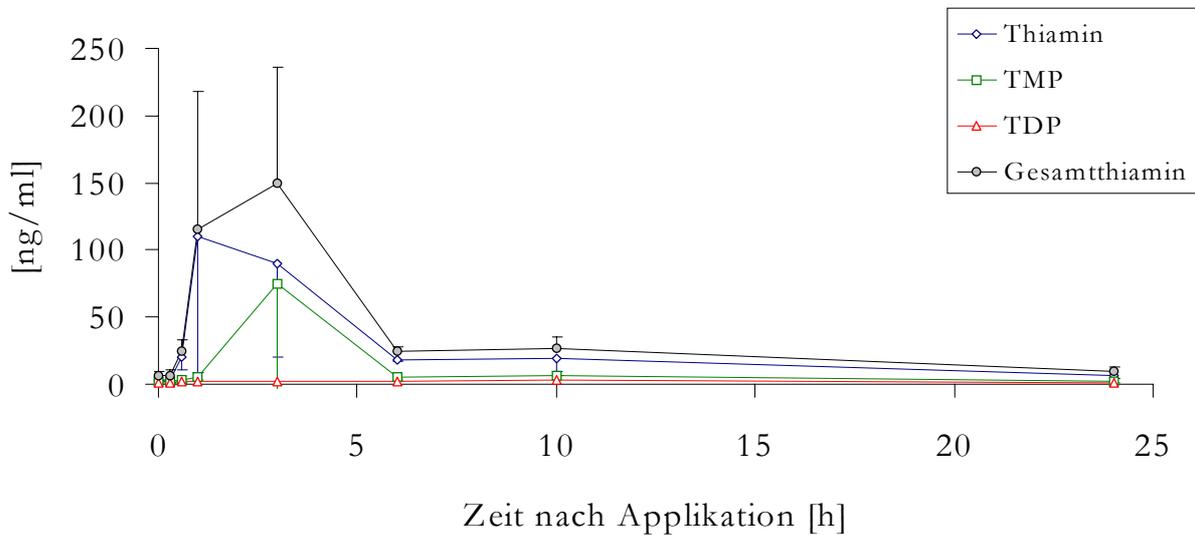


Abb. 6-8 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Plasma nach oraler Gabe von 321 µmol BTMP

Die halblogarithmische Darstellung des Konzentrations-Zeit-Verlaufes im Plasma nach intramuskulärer Injektion zeigt, dass die Elimination des Gesamtthiamins offenbar triphasisch ist (Abb. 6-9).

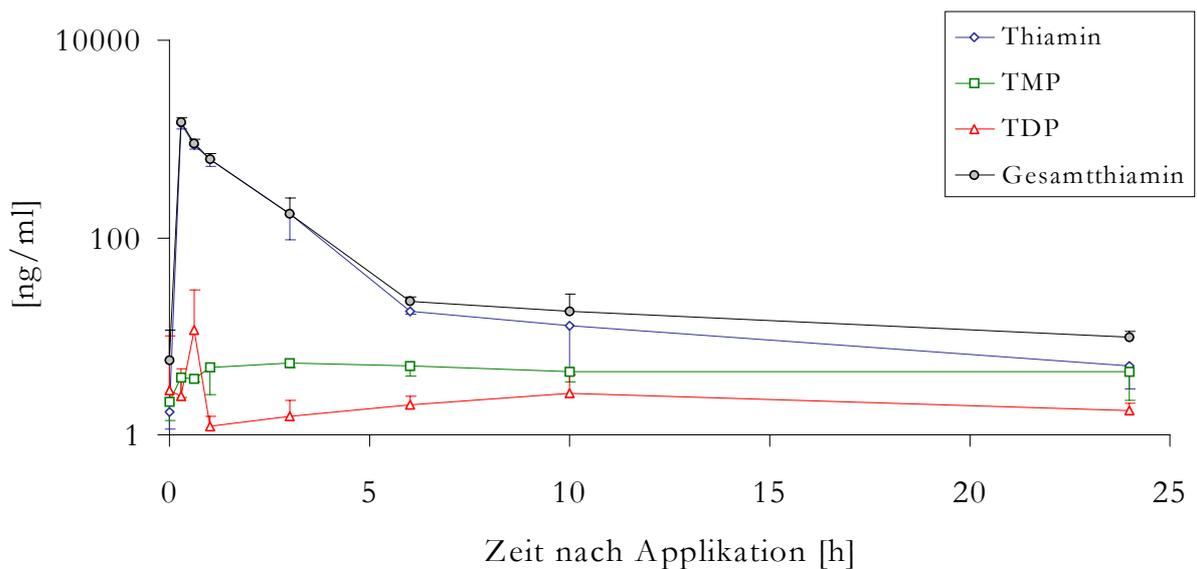


Abb. 6-9 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Plasma nach i.m. Applikation von 296 µmol T-HCl

Tabelle 6-5 Mittlere Konzentrationen (Standardabweichung) von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Plasma (ng/ml)

Zeit nach Applikation (h)	Prüfmedikation							
	T-HCl 296 μmol i.m. (78,9 mg Thiamin)				BTMP 321 μmol p.o. (85,7 mg Thiamin)			
	Thiamin	TMP	TDP	Thiamin $^{\Sigma}$	Thiamin	TMP	TDP	Thiamin $^{\Sigma}$
0 †	1,72 (0,57)	2,19 (0,79)	2,85 (7,26)	5,79 (5,57)	2,94 (1,27) ^{***}	2,57 (0,86)	1,37 (0,63)	6,56 (2,97)
0,3	1452,2 (206,2)	3,79 (1,39)	2,49 (2,13)	1460,1 (202,8)	3,67 (2,73) ^{**}	2,14 (1,02)	1,34 (0,88)	6,16 (4,00) ^{**}
0,6	873,0 (97,6)	3,75 (0,34)	1,89 (0,19)	883,1 (109,0)	20,4 (9,63) ^{**}	3,22 (1,66)	11,47 (18,1)	24,9 (7,86) ^{**}
1,0	615,6 (84,1)	4,82 (2,25)	1,21 (0,34)	620,1 (84,9)	109,7 (100,7) ^{**}	5,56 (2,77)	1,78 (0,95)	115,5 (102,4) ^{**}
3,0	170,9 (77,3)	5,40 (0,59)	1,55 (0,66)	176,1 (78,1)	89,7 (69,1)	74,3 (115,1)	1,98 (0,38)	149,6 (86,5)
6,0	17,8 (1,31)	4,93 (1,00)	2,00 (0,51)	22,9 (2,00)	18,3 (1,61)	5,87 (2,91)	2,63 (0,25)	25,0 (3,18)
10,0	12,6 (8,49)	4,39 (0,96)	2,62 (1,49)	17,7 (8,66)	19,1 (9,02)	6,76 (0,27) [*]	3,16 (0,11)	26,3 (8,94)
24,0	5,06 (2,11)	4,35 (2,11)	1,78 (0,35)	9,79 (1,53)	6,25 (2,26)	2,35 (1,26)	1,58 (0,63)	9,48 (3,55)

† N = 21 (BTMP) bzw. N = 19 (T-HCl); * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 (zweiseitige Fragestellung) berechnet mittels T-Test für unabhängige Stichproben

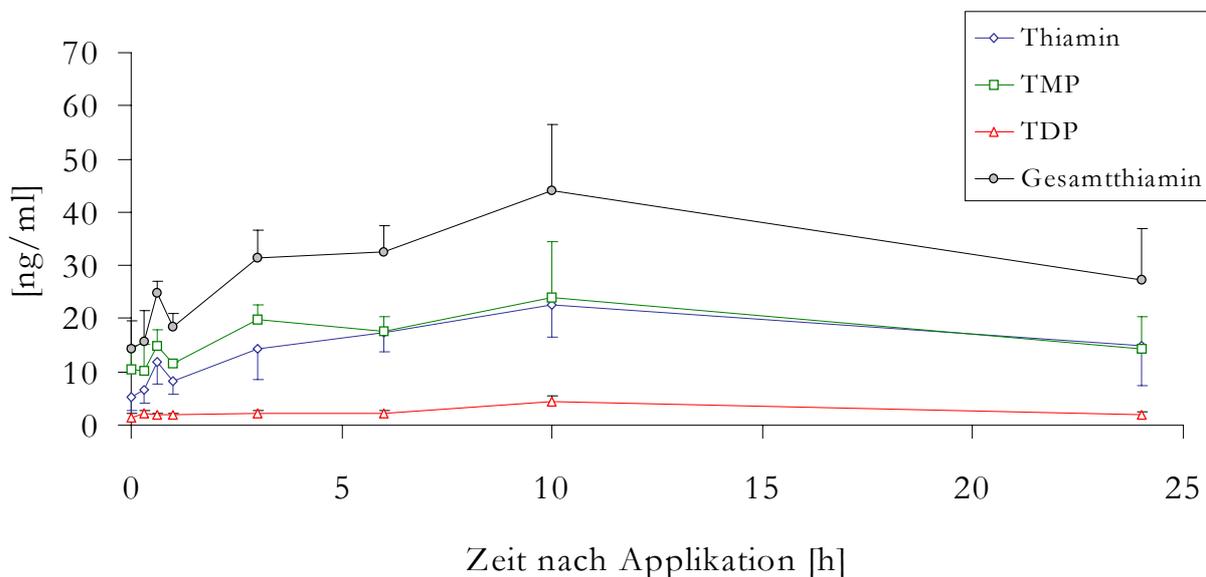


Abb. 6-10 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Liquor nach oraler Gabe von 321 μmol BTMP

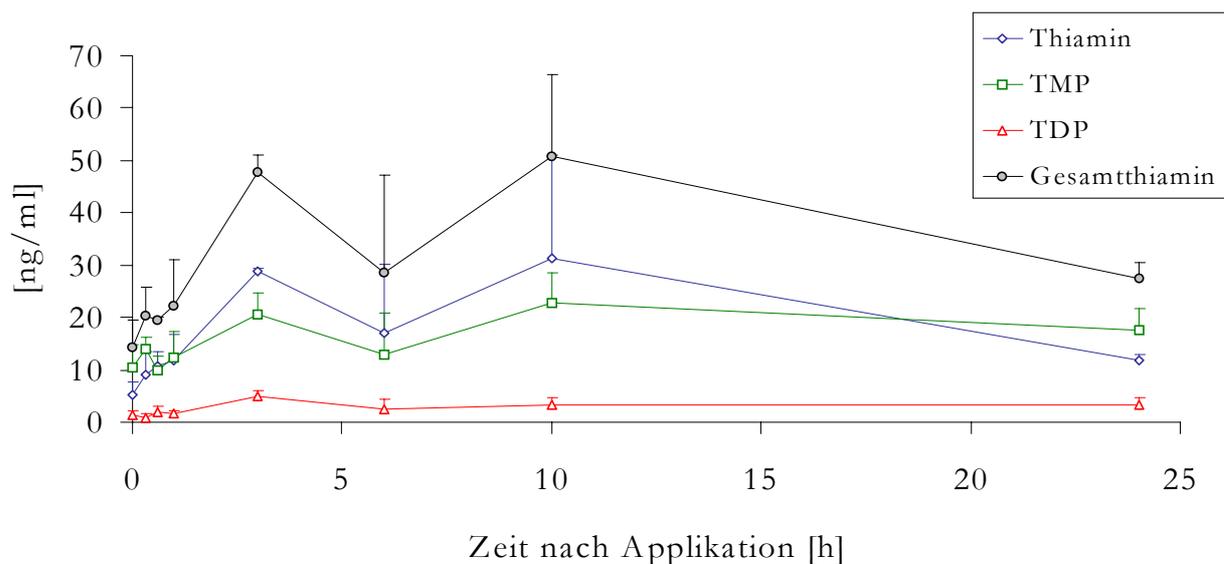


Abb. 6-11 Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Liquor nach i.m. Applikation von 296 µmol T-HCl

Tabelle 6-6 Mittlere Konzentrationen (Standardabweichung) von Thiamin und seinen Phosphorsäureestern im Liquor (ng/ml)

Zeit nach Applikation (h)	Prüfmedikation							
	T-HCl 296 µmol i.m. (78,9 mg Thiamin)				BTMP 321 µmol p.o. (85,7 mg Thiamin)			
	Thiamin	TMP	TDP	Thiamin ^Σ	Thiamin	TMP	TDP	Thiamin ^Σ
0†	5,33 (2,47)	10,35 (4,59)	1,36 (0,75)	14,34 (5,20)	5,33 (2,47)	10,35 (4,59)	1,36 (0,75)	14,34 (5,20)
0,3	9,16 (4,23)	13,96 (2,31)	0,72 (0,89)	20,39 (5,49)	6,68 (2,54)	10,08 (5,15)	2,22 (0,62)	15,85 (5,64)
0,6	10,82 (2,62)	9,76 (2,95)	2,00 (1,12)	19,61 (0,34)	11,73 (4,07)	14,93 (2,99)	1,82 (0,39)	24,89 (2,02)*
1,0	11,74 (4,88)	12,24 (4,95)	1,69 (0,41)	22,30 (8,71)	8,18 (2,29)	11,52 (0,43)	1,89 (0,27)	18,52 (2,33)
3,0	28,72 (0,60)	20,67 (3,97)	4,94 (1,09)	47,76 (3,31)	14,30 (5,64)*	19,92 (2,69)	2,28 (0,47)*	31,33 (5,18)*
6,0	17,02 (13,2)	12,86 (8,08)	2,57 (1,78)	28,55 (18,8)	17,33 (3,44)	17,52 (2,74)	2,18 (0,63)	32,42 (5,18)
10,0	31,19 (19,9)	22,79 (5,64)	3,41 (1,23)	50,91 (15,5)	22,65 (6,24)	24,08 (10,3)	4,39 (1,07)	43,98 (12,5)
24,0	11,82 (1,01)	17,44 (4,35)	3,30 (1,43)	27,35 (3,09)	14,92 (7,44)	14,26 (6,26)	1,98 (0,61)	26,97 (9,72)

† N = 20 (Gruppe III), * p < 0,05 (zweiseitige Fragestellung) berechnet mittels T-Test für unabhängige Stichproben

6.2.3 Pharmakokinetische Berechnungen

Die mit der linearen Trapezregel berechnete AUC des Thiamin^Σ-Gehaltes im Vollblut betrug 1497 ng·h/ml nach Gabe von BTMP und 1675 ng·h/ml nach Injektion von T-HCl. Die entsprechenden AUC-Werte für Plasma und Liquor sind in Tab. 6-8 aufgeführt. Damit beträgt die relative Bioverfügbarkeit von Thiamin^Σ in Plasma, Vollblut und Liquor in der Reihenfolge 0,365/0,894 bzw. 0,824. Die Mittelwertkurven von TDP und Thiamin^Σ in Vollblut, Plasma und Liquor konnten hinreichend gut an das gewählte Modell angepasst werden (Tab. 6-7 und Abb. 6-12).

Tabelle 6-7 Systemparameter mit zugehörigen Halbwertszeiten und Massenflussparameter

Parameter	Prüfmedikation	
	T-HCl 296 µmol i.m. (78,9 mg Thiamin)	BTMP 321 µmol p.o. (85,7 mg Thiamin)
B-Wert [†]	0,928	0,899
t _{lag, 1} (h)	0,036	0,761
k _a (h ⁻¹) (t _{1/2} [h]) [‡]	0,771 (0,899)	1,11 (0,622)
b ₁ (S2) (h ⁻¹) (t _{1/2} [h])	20,5 (0,034)	1,12 (0,619)
b ₂ (S2) (h ⁻¹) (t _{1/2} [h])	0,038 (18,5)	0,262 (2,64)
b ₃ (S2) (h ⁻¹) (t _{1/2} [h])	0,036 (19,5)	0,014 (49,4)
k ₂₃ (h ⁻¹)	0,001	0,852
k ₃₂ (h ⁻¹)	0,036	0,077
k ₂₅ (h ⁻¹)	5,53	0,001
k ₅₂ (h ⁻¹)	0,051	0,263
k _{el} (h ⁻¹) (t _{1/2} [h]) [¶]	15,0 (0,046)	0,203 (3,41)

[†] Bestimmtheitsmaß der linearen Regression (Gesamtgüte der Anpassung); [‡] entspricht k₁₂; [¶] entspricht k₂₄

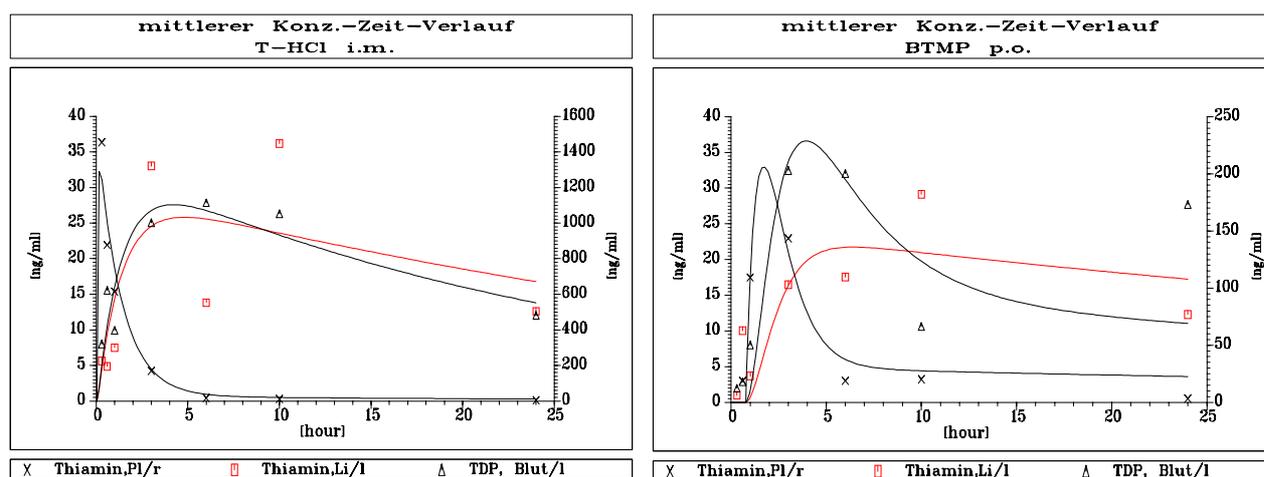


Abb. 6-12 Simultane Anpassung des mittleren Konzentrations-Zeit-Verlaufs von Thiamin^Σ im Plasma (Pl.), Liquor (Li.) und TDP im Vollblut an ein offenes Drei-Kompartiment-Modell

Abb. 6-12 zeigt, dass nach dem Modell die Zeitverzögerung zwischen der maximalen Thiamin^Σ-Konzentration im Plasma und im Liquor zwischen beiden Applikationsformen gleich ist (4,6 h nach BTMP und 4,5 h nach T-HCl). Die Ergebnisse der modellunabhängigen und kompartmentgebundenen Berechnungen (Index: „model“) sind in Tab. 6-8 zusammengefasst.

Tabelle 6-8 Pharmakokinetische Parameter

Parameter	Blut (TDP) [‡]		Plasma (Thiamin ^Σ)		Liquor (Thiamin ^Σ)	
	BTMP	T-HCl	BTMP	T-HCl	BTMP	T-HCl
AUC [†] (ng·h/ml)	494	501	767	2101	459	557
AUC _{modell} (ng·h/ml)	1210	858	2660	2650	1660	1110
ΔC _{max,modell} (ng/ml) [¶]	36,5	27,5	205,0	1300,0	22,0	26,0
t _{max} (h) [*]	3,0	6,0	3,0	0,3	10,0	10,0
t _{max,model} (h)	3,2	4,2	1,0	0,3	5,6	4,8
V _D (l)	1,32	659	159	1,98	2800	0,134
C ₀ (ng/ml)	64700	120	540	39800	30,6	587000
MRT (h)	63,1	26,7	59,3	7,24	72,2	35,4
CL _{sys} (ml·min ⁻¹)	-	-	1790	611	-	-

[†] berechnet mittels linearer Trapezregel von 0-24 Stunden

[‡] Massenanteil Thiamin in TDP

[¶] Differenz des Konzentrationsanstiegs (abzüglich Basiswert)

^{*} gemessene t_{max} (dazugehörige C_{max}-Werte: s. Tab. 6-4 bis 6-6)

6.3 Diskussion

Die Thiamin^Σ-Konzentrationen in Vollblut und Plasma des untersuchten Patientenkollektivs lassen zunächst auf einen ausreichenden Thiaminversorgungszustand schließen (vgl. Abschnitt 2.1.2). Sowohl die physiologischen Thiaminkonzentrationen im Liquor als auch das Verhältnis von Thiamin/TMP lassen sich überdies gut in die Befunde anderer Autoren einordnen (Tab. 6-9).

Tabelle 6-9 Vergleich physiologischer Thiaminkonzentrationen im Liquor (ng/ml)

Probanden	Thiamin	TMP	Gesamt-B ₁ [†]	T/TMP	Referenz
diese Studie	5,3 ± 2,5	10,4 ± 4,6	15,7	0,51	
Gesunde	n.b.	n.b.	17-27	n.b.	Baker et al., 1974
Gesunde	4,5 ± 2,2	9,7 ± 2,7	15,2	0,46	Tallaksen et al., 1992b
Patienten [‡]	8,2 ± 0,3	11,3 ± 0,4	19,5	0,73	Poloni et al., 1992
Patienten [¶]	4,9 ± 0,3	7,0 ± 0,4	11,9	0,71	Poloni et al., 1992
Patient [*] (N=1)	2,7	3,8	6,5	0,71	Tallaksen et al., 1993a
Patientin [§] (N=1)	0,8	< 0,4	1,2	2,0	Tallaksen et al., 1993a

[†] Summe der Phosphatester; n.b. = nicht bestimmt; [‡] ohne neurologische Erkrankungen; [¶] mit Ataxien degenerativen Ursprungs; ^{*} mit Wernicke Enzephalopathie; [§] Korsakoff-Syndrom

Dass der nachweisbare Gehalt phosphorylierten Thiamins fast ausschließlich von TMP gebildet wird, dessen Anteil in dieser Studie 66% des Gesamtthiamins betrug, ist ebenfalls ein allgemeiner Befund: unter der Voraussetzung einer intakten Blut-Liquor-Schranke werden ca. 60% des Ge-

samtthiamins von TMP gebildet (Rindi et al., 1981, s. Tab. 6-9). Wenn der Funktionszustand der Blut-Hirn-Schranke nicht, wie sonst üblich, anhand des Serum/Liquor-Albumin-Verhältnis eingeschätzt werden kann⁸, liefert auch das Thiamin/TMP-Verhältnis im Liquor Hinweise auf deren Funktion. Da Patienten mit Funktionsstörungen der Blut-Hirn-Schranke in die vorliegende Untersuchung nicht eingeschlossen wurden, reflektieren die Höhe und das Verteilungsmuster der Thiaminphosphatester einen völlig normalen Thiaminstatus. In Abschnitt 4 und 5 wurde bereits diskutiert, dass die Bestimmung von Thiamin und dessen Phosphorsäureestern im Vergleich zur Bestimmung der ETKA als direkte, sensitivere und mehr diskriminierende Methode zur Bestimmung des Thiaminstatus eingeschätzt wird (Warnock et al., 1978). Entsprechende Untersuchungen bei Patienten mit neurologischen Erkrankungen verschiedener Genese können deshalb Störungen des Verhältnisses von Thiamin zu TMP im Liquor belegen (vgl. Tab. 6-9). Während bei Alkoholikern in Blut, Plasma und Liquor jeweils in gleichem Verhältnis reduzierte Thiamin- und TMP-Konzentrationen gemessen werden (Rindi et al., 1981), ist bei Patienten mit amyotropher Lateralsklerose vor allem der TMP-Gehalt im Liquor erniedrigt ($T/TMP\text{-Verhältnis} > 1$), was mit einem spezifischen Defekt der TDPase bei diesem Krankheitsbild erklärt wird (Poloni et al., 1986). Eine Umkehrung des Verhältnisses ist auch bei einem schweren Fall von Wernicke Enzephalopathie dokumentiert worden (vgl. Tab. 6-9). Mit einiger Sicherheit kann gegenwärtig nur gesagt werden, dass die Alteration der Thiamin/TMP-Konzentration ein Indikator des reduzierten TDP-Gehaltes im Körper bzw. der Aktivität von Phosphorylasen ist (Rindi et al., 1981). Eine Unterscheidung in einen Defekt innerhalb der Bürstensaummembran bei der intestinalen Absorption, beim transzellulären Transport oder bei der TDP-Bindung an den Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex – ein Defekt, der natürlicherweise bei ataxischen Symptomen beobachtet werden kann (Heroux et al., 1996) – ist bisher nicht möglich. Anhand des Thiamin/TMP-Verhältnis lässt sich auch die Wirksamkeit einer Thiaminsubstitution danach einschätzen, in welchem Ausmaß die TMP-Konzentration im Liquor ansteigt (Tallaksen et al., 1993a). Ein schneller Anstieg der TMP-Konzentration im Liquor nach intramuskulärer Gabe von T-HCl korrelierte mit der Besserung des klinischen Status der Wernicke Enzephalopathie (Tallaksen et al., 1993a).

Die in dieser Studie ermittelten, im Vergleich zum Plasma signifikant höheren, basalen Thiamin-, TMP- und Thiamin^Σ-Konzentrationen im Liquor bestätigen zunächst die Befunde, die an gesunden Probanden erhoben wurden (Tallaksen et al., 1992b). Die Ursache der hohen TMP-Konzentrationen im Liquor ist nach wie vor unbekannt. TMP entsteht durch Dephosphorylierung von TDP, welches im Liquor kaum vorkommt, und wird weiter zu Thiamin dephosphoryliert

⁸ Die Albuminkonzentration wurde in vorliegender Arbeit nicht bestimmt.

(vgl. Abschnitt 2.1.2). Außerdem kann nach Verabreichung der Prüfmedikation jeweils ein gleichsinniger Anstieg der Thiamin- und der TMP-Konzentration beobachtet werden, während im Plasma nur die Thiaminkonzentration nennenswert ansteigt. Der hohe TMP-Konzentrationsgradient vom Plasma zum Liquor unterstützt deshalb die Vorstellung, wonach TMP mittels eines aktiven Transportmechanismus das Kapillarendothel passiert (Spector, 1976). Mittlerweile konnten für mehr als 30 Nährstoffe die kinetischen Konstanten sättigbarer Transportprozesse (für Thiamin $K_m = 4 \mu M$, $V_{max} = 0,03 \text{ nmol/min/g}$) charakterisiert werden, wobei die genauen Eigenschaften des spezifischen Carriers für Thiamin unbekannt sind (Pardridge, 1999, De Boer und Breimer, 1994). Die Alternativhypothese besagt, dass die TMP-Konzentration im Liquor die TDP-Konzentration im Nervengewebe widerspiegelt (Poloni et al., 1982). Da jedoch die genauen regulatorischen Mechanismen der Dephosphorylierung von TMP am Ort des Transports oder in der Nervenzelle unbekannt sind, kann aus der vorliegenden Untersuchung die Herkunft des TMP nicht abgeleitet werden. Die mögliche Anpassung der Thiamin- bzw. Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentrationen an Polynome ersten bzw. dritten Grades zeigt einen limitierten Anstieg der Thiaminkonzentration im Liquor verglichen mit dem Plasma, d.h. einen sättigbaren Transportmechanismus. Dieser Befund ist identisch mit dem bei Tallaksen et al. (1992b) berichteten. *In-vitro*- und *in-vivo*-Kinetikstudien an Kaninchen-Hirnen zeigen in der Tat, dass auf der Basis sättigbarer Transportmechanismen homöostatische Kontrollmechanismen bei der Thiaminaufnahme in das Zentralnervensystem wirken (Spector, 1976). Bei physiologischen Plasmakonzentrationen gelangen weniger als 5% des Gesamtthiamins in den *Plexus chorioideus* per einfacher Diffusion (Spector, 1976), d.h. die Kinetik der Absorption über die *Plexus chorioidei* lässt sich nach den *Michaelis-Menten*-Gesetzen beschreiben. Beim Menschen gibt es darüber allerdings keine konsistenten Studienergebnisse, insbesondere wenn pharmakologische Dosen gegeben werden. Lediglich Baker et al. (1974) zeigten, dass sechs Stunden nach einer intravenösen Gabe von 50 mg T-HCl ein dreifacher Anstieg der Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration im Liquor beobachtet werden konnte. Die korrespondierenden Konzentrationen an freiem Thiamin wurden allerdings nicht bestimmt. In Einklang mit den Ergebnissen von Tallaksen et al. (1992b) kann als Zwischenergebnis festgehalten werden, dass innerhalb physiologischer Plasmakonzentrationen die Liquorkonzentrationen kontinuierlich ansteigen, so dass die homöostatische Barriere für den Thiamintransport in die Cerebrospinalflüssigkeit erst bei sehr hohen Konzentrationen wirksam werden muss. Das hat eine wichtige Bedeutung für die Auswahl des pharmakokinetischen Modells (s.u.).

Es wird davon ausgegangen, dass BTMP und SBT als Prodrug bzw. lipophiler Metabolit die Blut-Hirn-Schranke per Diffusion überwinden können (Jermendy und Kempler, 1997). Analog zur Passage durch die intestinale Bürstensaummembran sollte dabei die Debenzoylierung durch dort vorhandene reduzierende Substanzen zur konsekutiven Erhöhung der Thiaminkonzentrationen in

Plasma, Erythrozyten und Liquor führen (Bitsch und Bitsch, 1989). Baker et al. (1974) berichteten bei gesunden Probanden, dass sechs Stunden nach oraler Gabe von 50 mg TTFD (entspricht 33,4 mg Thiamin, berechnet als Base) und 50 mg Thiaminpropyldisulfid (entspricht 37,4 mg Thiamin, berechnet als Base) der mittlere Gesamthiamingehalt im Liquor auf 76 bzw. 51 ng/ml, d.h. um 216 bzw. 200% gegenüber dem Ausgangswert und damit auf ein etwa gleiches Niveau, anstieg. Interessant war, dass nach intravenöser Applikation von 50 mg T-HCl (entspricht 39,5 mg Thiamin, berechnet als Base) der mittlere Gesamthiamingehalt im Liquor mit 68 ng/ml, entsprechend einer Erhöhung um 195% gegenüber dem Ausgangswert, ebenfalls in gleicher Höhe lag. In der vorliegenden Studie erhöhte sich nach der intramuskulären Applikation der Gesamthiamingehalt im Liquor zum Zeitpunkt t_{\max} um 255%, während er nach der oralen Applikation von BTMP um 207% gegenüber dem Ausgangswert anstieg. Nach Baker et al. (1974) ist der limitierende Faktor bei der Thiaminaufnahme in den Liquor somit in der geschwindigkeitsbegrenzten intestinalen Absorption zu sehen oder – anders ausgedrückt – auf die dosisproportionale Resorption und damit gute relative Bioverfügbarkeit der synthetischen Derivate zurückzuführen, da die orale Gabe von 50 mg T-HCl zu keiner signifikanten Erhöhung des Gesamthiamingehaltes führte. Da Messungen zu weiteren Zeitpunkten, d.h. im Sinne einer vollständigen Pharmakokinetik, nicht durchgeführt wurden, ist eine Beurteilung des Konzentrations-Zeit-Profiles mit den vorliegenden Ergebnissen nicht möglich. Ob auch andere Mechanismen für die beobachtete Steigerung der Thiaminaufnahme in den Liquor nach pharmakologischen Thiamindosen verantwortlich sein können, wurde nicht diskutiert; die zitierten Ergebnisse könnten auch Ausdruck dafür sein, dass mit steigender Dosis die Invasionsgeschwindigkeit nicht proportional zunimmt, sondern zu einem Konzentrationsmaximum führt, das trotz weiterer Dosissteigerung nicht überschritten wird. Das würde im obigen Sinne mit den Eigenschaften des Carrier-vermittelten Transportsystems konform sein. Die Funktion der Blut-Hirn-Schranke wird heute nicht mehr mit einer rigiden, durch das cerebrovaskuläre Endothel gebildeten physikalischen Barriere verglichen, sondern ist eher als dynamisches Konstrukt aufzufassen, da die Astrozyten und wahrscheinlich auch hormonale und neuronale Stimuli Einfluss auf das Verhalten der Blut-Hirn-Schranke nehmen können (De Boer und Breimer, 1994). Es ist beispielsweise bekannt, dass die Passage von Arzneimitteln auch dann erleichtert wird, wenn es zu einer Erhöhung der passiven Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke im Zuge von Erkrankungen, die mit entzündlichen Prozessen verbunden sind, kommt (Saunders et al., 1999). Tallaksen et al. (1993a) beschrieben beispielsweise bei einer Patientin mit klinisch manifestem Korsakoff-Syndrom, dass eine Thiamin-substitution mit zunächst 800 mg T-HCl i.m. pro Tag und fortgesetzter 5wöchiger Injektion von 100 mg zu einer um fast 2000% erhöhten Gesamthiaminkonzentration im Liquor führte. Weiterhin können auch eine veränderte Proteinbindungskapazität oder veränderter Blutfluss den Transport hydrophiler Verbindungen beeinflussen, wie sich aus Tierversuchen ergibt (De Boer und Breimer,

1994). Vergleichsweise wenig ist über die Möglichkeit der Up- und Down-Regulation von Rezeptorsystemen an der Blut-Hirn-Schranke bekannt, wie sie ebenfalls in Tierversuchen beobachtet werden können (De Boer und Breimer, 1994). Diese interindividuell letztlich verschieden wirkenden Faktoren tragen zu der hohen Gesamtvarianz der Liquormesswerte, wie sie sich in Abb. 6-12 darstellt, bei.

Im verwendeten pharmakokinetischen Modell werden die Verteilungsräume als *nebeneinander angeordnet* betrachtet (Abb. 6-13). Sehr häufig lassen sich vom zentralen Kompartiment, in dem sich die zugeführte Substanz initial verteilt, weitere Verteilungsräume abgrenzen. Diese einzelnen Kompartimente, bei denen es sich zum größten Teil um fiktive Gebilde handelt, können nebeneinander angeordnet sein. Aus dem Plasma erfolgt die Diffusion des Thiamins in den extrazellulären Flüssigkeitsraum (ECF), es wird sich ein Gleichgewicht der Konzentration zwischen diesen beiden Räumen einstellen. Gleichzeitig wird eine Diffusion aus dem Plasma in den Liquorraum angenommen, auch hier stellt sich ein Gleichgewicht ein. Finden keine weiteren Veränderungen statt und handelt es sich um den nicht-eiweißgebundenen Thiaminanteil, so werden sich schließlich im Plasmawasser, im ECF und Liquor überall die gleichen Konzentrationen einstellen (Gladke und von Hattingberg, 1977).

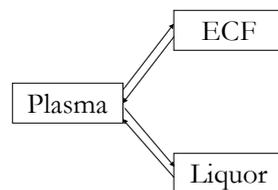


Abb. 6-13 Nebeneinander angeordnete Kompartimente

Sättigbare Anteile an den Distributionsprozessen im Sinne der *Michaelis-Menten*-Kinetik werden ausgeschlossen, d.h. es handelt sich nur um lineare Eliminations- und Distributionsprozesse. Dafür sprechen folgende Argumente: (1) Die Basiswerte von Thiamin und Thiamin^Σ im Liquor konnten im Regressions-Plot auch an eine lineare Funktion angepasst werden. (2) Untersuchungen am Kaninchenhirn zeigten, dass nach intraventrikulärer Applikation von verschiedenen Thiamindosen die Clearance des Liquors nichtsättigbare Eigenschaften zeigte (Spector, 1976, Greenwood et al., 1982). (3) Der beobachtete Anstieg der Thiaminkonzentration im Liquor auch nach parenteraler Applikation könnte Ausdruck eines dualen Transportmechanismus an der Blut-Hirn-Schranke ähnlich dem des Intestinum sein, der bei Thiaminsalzen dazu führt, dass deren Absorption nicht einer Sättigungskinetik unterliegt, sondern in höheren Konzentrationen auch dosisproportional verläuft. (4) Die Ergebnisse vieler Untersuchungen zur Absorption synthetischer Thiaminderivate sprechen für

eine beschleunigte Diffusion an Zellgrenzflächen (Membranen) gegenüber wasserlöslichen Thiaminsalzen und können deshalb nicht auf einfache Dosiseffekte zurückzuführen sein. (5) Thiamin kann möglicherweise unter Bildung einer trizyklischen elektroneutralen Zwischenstufe innerhalb der Lipidmembran zur Diffusion befähigt sein (Brown, zit. nach Weber, 1991). (6) Aus den Untersuchungen von Weber (1991) ist bekannt, dass die Pharmakokinetik von Thiamin nichtlineare Eigenschaften zeigt. Die Höhe der Dosis ist in diesem Fall entscheidend, denn im vorliegenden Fall kann damit gerechnet werden, dass, bedingt durch die Applikationsform, ein erheblicher Teil der Dosis nahezu vollständig renal eliminiert wird. Damit können lineare Verstärkungs- und Überlagerungseigenschaften angenommen werden, denn auch die mathematische Überprüfung der Verlaufskurve ließ auf eine lineare Kinetik schließen. Auch unter Berücksichtigung der durch das Studiendesign bedingten Restriktionen belegen die Güte der Anpassungsparameter und die Bestimmung der phänomenologischen Parameter, dass das gewählte Modell angenommen werden kann.

Die Ergebnisse zeigen, dass es nach der intramuskulären Applikation von Thiamin zu einem unmittelbaren, starken Anstieg des Thiamin-Gehaltes in Plasma und Vollblut, aber nur zu einem verzögerten und weniger starken Anstieg von TDP und TMP im Vollblut kommt. Die Verzögerungszeit vom Zeitpunkt der Applikation bis zum Beginn der Absorption des Wirkstoffes $t_{lag,1}$ von 2,16 min zeigt deshalb erwartungsgemäß, dass beim intramuskulären Bolus der Wirkstoff nach seiner Deposition im Interstitium der Muskulatur unverzüglich und vollständig ins Blut übertritt. Ebenfalls rasch kommt es nach oraler Gabe von BTMP zu einem Anstieg der Thiaminkonzentration in Plasma und Vollblut, der jedoch in seinem Ausmaß weniger stark ist und eine sehr viel größere interindividuelle Varianz erkennen lässt. Da der Großteil des TDP in den Erythrozyten lokalisiert ist, spiegelt die starke Erhöhung des Thiamingehaltes im Vollblut nach dem intramuskulären Bolus die Konzentrationserhöhung im Plasma wider. Freies Thiamin wird kaum in den Erythrozyten retiniert. Vergleichsweise gering ist hierbei die Pyrophosphoylierung von Thiamin. Die Daten zeigen zudem, dass nach dem intramuskulären Bolus eine auffällige Verzögerungszeit von 5,7 Stunden besteht zwischen dem maximalen Thiamin-Gehalt im Plasma und der TDP-Konzentration in den Erythrozyten. Auch Tallaksen et al. (1993b) beobachteten eine Lag-Phase von ca. 5,2 Stunden zwischen den Konzentrationsmaxima von Thiamin im Plasma und TDP nach intravenöser Applikation von 50 mg T-HCl. Die Daten sprechen somit für die Existenz eines Carrier-vermittelten Transportprozesses bei der Thiaminaufnahme in die Erythrozyten (Tallaksen et al., 1993b). Anders stellt sich die Situation beim BTMP dar. Die TDP-Bildung erfolgt hier jedoch nicht nur in einem vergleichsweise stärkeren Ausmaß, sondern auch nachhaltiger, wie an den um 45% signifikant höheren TDP-Konzentrationen bei Studienende erkennbar ist. Es konnte außerdem keine zeitliche Verzögerung der beobachteten Konzentrationsmaxima von Thiamin und TDP festgestellt werden, was der beschleunigten Diffusion des BTMP an Zellmembranen und Umwandlung in TDP entspricht (Bitsch et al., 1991). Beiden

Applikationsformen gemeinsam ist allerdings ein moderater Anstieg des Thiamin^Σ-Gehaltes im Liquor im Vergleich zum Blut, der zudem zeitlich wesentlich stärker verzögert ist.

Die Anordnung der Substanzen im zentralen Kompartiment, gekennzeichnet durch k_a , ist für beide Applikationsarten vergleichbar, was mit der Beobachtung übereinstimmt, dass eine sehr hohe Debenzoylierungsrate von BTMP zum Thiamin erfolgt (Ziems, 1997). Innerhalb des Submodells 2 (Disposition) stellt sich dann die Verteilung von Thiamin bzw. die resorbierte Dosisfraktion des aus BTMP gebildeten Thiamins als einer triphasischen Eliminationsfunktion folgend dar. Dabei stimmen insbesondere die nach oraler Gabe von BTMP berechneten Systemparameter für Thiamin^Σ gut mit den in der Literatur mitgeteilten Werten für die α -, β - und γ -Phase der Thiaminelimination überein (vgl. Tab 2-3). Die drei Phasen, nach denen sich der Konzentrations-Zeit-Verlauf bei **intramuskulärer Applikation** beschreiben lässt, können folgendermaßen erklärt werden. Der in die Muskulatur gesetzte Thiaminbolus tritt unverzüglich aus dem Interstitium in den intravasalen Raum. Die Speicherkapazität des Plasmawassers ist allerdings sehr gering, so dass eine rasche Abwanderung in andere Kompartimente erfolgt, wie an der relativ kurzen MRT von 7,2 h erkennbar ist. Dabei wird ein Großteil des injizierten Thiamins bereits während der ersten Minuten renal eliminiert. Die β - und γ -Phase korrelieren mit Akkumulationseffekten im Gewebe (Hagen, 1991). Die „Gesamt-Eliminationskonstante“ ($k_{el} = 15 \text{ h}^{-1}$), die der Summe aller individuellen Mikrokonstanten entspricht und alle spezifischen, bei der Elimination des Wirkstoffes aus dem zentralen Kompartiment parallel ablaufenden Prozesse beschreibt, verdeutlicht den renalen Überlauftreffekt, wie er auch nach intravenöser Injektion beobachtet werden kann (Weber und Kewitz, 1985). Die Geschwindigkeitskonstante der Phosphorylierung des Thiamins zum TDP ist relativ hoch, was zeigt, dass ein gewisser Teil der applizierten Dosis, vorwiegend in gut durchbluteten Geweben, sofort intrazellulär eingeschlossen wird. Bemerkenswert gering ist die Geschwindigkeitskonstante des Zuflusses zum Liquorraum ($k_{23} = 0,001 \text{ h}^{-1}$). Dies deutet zunächst auf einen langsamen Umsatz des Thiamins im Liquor hin und könnte darauf hinweisen, dass die Steigerung passiver Diffusionseffekte sehr langsam vor sich geht. Das scheinbare Verteilungsvolumen des Gesamtthiamins im Plasma, das 2 l nach intramuskulärer Applikation beträgt und damit einer vollständigen Verteilung im Plasmawasser entspricht, ergibt sich aus der sehr hohen Anfangskonzentration und zeigt eine initial geringe Verteilung des Thiamins. Hierbei ist zu beachten, dass Verteilungsvolumina nur dann anatomischen Kompartimenten zugeordnet werden können, wenn die Substanz nicht proteingebunden ist, was daher zumindest im Liquor bei intakter Blut-Liquor-Schranke zutrifft. Das Verteilungsvolumen von Thiamin^Σ im Liquor (0,134 l) entspricht demzufolge genau der Gesamtmenge der Cerebrospinalflüssigkeit, d.h. das Thiamin verteilt sich darin vollständig und wird nur langsam wieder ins zentrale Kompartiment verteilt. Die MRT ist groß und verdeutlicht den verzögerten Austausch mit dem zentralen Kompartiment.

Die Betrachtung des Systemparameters, der bei der triphasischen Elimination der terminalen Halbwertszeit entspricht ($\lambda_z = 49,4$ h), zeigt zunächst analog zur Literatur, dass starke Akkumulationseffekte in und Umverteilungseffekte aus tieferen Kompartimenten zu beobachten sind, wenn BTMP oral appliziert wird. Bemerkenswert hoch sind allerdings die MRT-Werte, die beim TDP ca. 100% über den von Ziems (1997) berechneten liegen. Sehr niedrig ist die Geschwindigkeitskonstante der Phosphorylierung zum TDP, so dass dieser Prozess keine Sättigung aufweist. TDP wird ins periphere Kompartiment verteilt und dort stark retiniert, wie auch entsprechende Gewebeanalysen zeigen (Hilbig und Rahmann, 1998). Die Betrachtung des Verteilungsvolumen des TDP allein führt zu dem Schluss, dass das Ausmaß der Distribution gering ist. Dieser Befund ist analog zu dem bei Ziems (1997) berichteten. TDP verteilt sich damit nicht im angenommenen Maß im Gewebe, wobei davon auszugehen ist, dass das Verteilungsvolumen lediglich ein Proportionalitätsfaktor zwischen Dosis und Konzentration ist, der zudem mit der Clearance und der Eliminationskonstanten in Beziehung steht: $V = CL/k$ (siehe 4.3, Gladke und von Hattingberg, 1977). In diesem Falle würde sich schon aufgrund der hohen Massenflussrate zum zentralen Kompartiment ($t_{1/2} = 2,6$ h) ein kleineres Verteilungsvolumen ergeben und die Dynamik des TDP-Transfers betonen. Die MRT deutet auf einen lang anhaltenden TDP-Spiegel hin, was zudem durch die im Vergleich zur i.m.-Applikation um 45% höheren Gehalte nach 24 Stunden bestätigt wird. Die Massenflussrate für den Thiamintransfer in den Liquor ist mehr als 800fach so groß wie nach dem i.m.-Bolus und ist im Sinne einer starken Permeationsfähigkeit der Blut-Hirn-Schranke und damit Liquorgängigkeit des BTMP zu werten. Ziems (1997) konnte nachweisen, dass BTMP und SBT eine Weile im Organismus als intakte Substanzen verweilen. SBT ist als erster Metabolit des BTMP lipophil und kann dadurch die Blut-Hirn-Schranke überwinden, wobei es dabei in freies Thiamin debenzoyliert wird. Die Rückflussrate aus dem Liquor ist bei beiden Applikationsformen kaum verschieden ($k_{32, i.m.} = 0,036$, p.o.: 0,077), was mit der Überlegung übereinstimmt, dass für das in den Liquorraum gebrachte Thiamin die gleichen Eliminationsmechanismen wirken müssen. Das Verteilungsvolumen von Thiamin^Σ im Plasma ist im Vergleich zum i.m.-Bolus relativ hoch, stimmt jedoch exakt mit dem bei Kitamori und Itokawa (1993) berechneten (vgl. Tab. 2-4) überein. Dieser Wert deutet darauf hin, dass das Thiamin in großem Ausmaß in TDP transferiert, dadurch in die Blutzellen eingeschlossen und gleichzeitig im Liquorraum angeordnet wird. Die Gesamteliminationskonstante $k_{el} = 0,203$ stimmt mit den Ergebnissen aus Tierversuchen überein (Nogami et al., 1970, vgl. Tab. 2-6), wonach im Vergleich zu wasserlöslichen Thiaminsalzen eine sehr viel stärkere Umverteilung des aus dem zirkulierenden BTMP kontinuierlich nachgebildeten Thiamins beobachtet wird.

Die beobachtete große interindividuelle Variation des Thiaminmetabolismus bei den Patienten steht in Einklang mit anderen Studien zur Pharmakokinetik von Thiamin und reflektiert möglicherweise

den individuell verschiedenen Versorgungszustand bei Studienbeginn (Tallaksen et al., 1993b). Unterschiede in der Zahl der intrazellulären Bindungsstellen für TDP oder eine Produkthemmung der Phosphorylierungsenzyme in unterschiedlichem Ausmaß können infolge der Beobachtung jeweils verschiedener Patienten zu den Messzeitpunkten die Varianz erheblich vergrößern (Weber et al., 1990, Tallaksen et al., 1993b). Da die AUC auch von der Clearance abhängt, sollte bei Bioverfügbarkeitsuntersuchungen nach Möglichkeit ein intraindividueller Vergleich erfolgen, d.h. jeder Proband erhält das Referenz- und Prüfpräparat. Zur Verringerung der Gesamtvarianz sollten zudem bei pharmakokinetischen Studien mit Vitaminen normalerweise die tieferen Kompartimente, die in langsamem Austausch mit dem zentralen Kompartiment stehen, aufgefüllt sein (Zempleni und Kübler, 1995). *Da dies infolge des Studiendesigns nicht vorgesehen war, bedürfen die vorliegenden Ergebnisse einer genaueren Verifizierung mit Hilfe populationskinetischer Methoden* (Steimer et al., 1993). Allerdings stellt die Lumbalpunktion für den Patienten eine nicht unerhebliche Belastung dar, so dass das verwendete Studiendesign auch einen guten Kompromiss gestattete zwischen der Begrenzung der Verweigerungsquote einerseits und der Möglichkeit, ausreichend viele Messzeitpunkte für die Erstellung eines Konzentrations-Zeit-Verlaufs im Liquor zu erhalten, andererseits.

Da fast äquimolare Dosen gegeben wurden, sind die Ergebnisse eindeutig Beleg dafür, dass die orale Applikation von BTMP, dessen Anwendung in der klinischen Praxis sich darüber hinaus erneut als sicher und effizient erwiesen hat, zu einer deutlich besseren Bioverfügbarkeit im Liquor führt. Die parenterale Applikation hoher Thiamindosen kann in Zukunft durch die orale Gabe von BTMP vollständig ersetzt werden.

Kapitel 3

ZUSAMMENFASSUNG

7 Zusammenfassung des klinisch-experimentellen Teils

Die vorliegende Arbeit verfolgte drei Ziele. Das *erste Ziel* dieser Arbeit bestand darin, bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz in Form einer klinischen Studie die Resorption, Verteilung und Ausscheidung des Thiaminnitrat und des synthetischen Pro-Drug *S*-Benzoylthiamin-O-monophosphat (BTMP) in kommerziell erhältlichen Präparaten vergleichend zu untersuchen. Dazu sollten die Daten nach der Formulierung eines geeigneten Metaboliten-Modells angepasst und daraus die pharmakokinetischen Parameter berechnet werden. Das *zweite Ziel* dieser Arbeit bestand darin, die Bioverfügbarkeit von Thiamin anhand der Thiaminzufuhr und geeigneten Parametern des Thiaminstatus bei konservativ behandelten, chronisch niereninsuffizienten Patienten (CRF), Patienten mit chronischer Hämodialyse (DP) und Patienten im Zustand nach Transplantation (RT) in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Grad der Nierenfunktion zu untersuchen. Bei den DP wurde zusätzlich der Einfluss der Dialysebehandlung auf den Thiaminstatus, sowohl während als auch nach einer Phase mit einer oralen Supplementierung in unterschiedlicher Höhe (1,5 und 8,0 mg), unter Berücksichtigung der Cofaktoren Blutfluss- (QB)/Dialysatfluss (QD)-Rate, Molekülausschlussgrenze der verwendeten Membran, Behandlungshäufigkeit und -dauer untersucht. Das *dritte Ziel* der Arbeit bestand darin, in Form einer Anwendungsbeobachtung nach §67 Abs. 6 AMG bei Patienten mit neurologischen Systemerkrankungen die relative Bioverfügbarkeit ($F = AUC/AUC_{i.m.}$) von Thiamin nach oraler Gabe von BTMP im Vergleich zu einer intramuskulären Injektion von Thiaminhydrochlorid im Zentralnervensystem (Liquor cerebrospinalis) zu untersuchen. Bei Eignung der Daten sollte ein Metaboliten-Modell formuliert werden, nach dem die pharmakokinetischen Parameter berechnet werden können.

zu 1)

Jeweils zehn Patienten (3 Frauen, 17 Männer; 7 mit kompletter Anurie) mit terminaler Niereninsuffizienz (Alter: 38-64 J., BMI: 22,0-30,3 kg/m², Serum-Kreatinin: 460-1117 µmol/l, Serum-Harnstoff: 18-40 mmol/l) erhielten morgens nüchtern eine orale Einmalapplikation von entweder 100 mg BTMP („milgamma 100“, entspricht 57,1 mg Thiamin) oder 100 mg Thiaminnitrat (I-NO₃) („Neurotrat S forte“, entspricht 81,4 mg Thiamin). Das Konzentrations-Zeit-Profil von Thiamin, Thiaminmonophosphat (TMP), Thiamindiphosphat (TDP) und deren Summe (Thiamin^Σ) wurde im Blut

und Plasma über einen Zeitraum von 24 Stunden mit Hilfe einer validierten HPLC-Methode bestimmt. Der TDP-Gehalt in den Erythrozyten wurde anhand des Hämatokrits und des TDP-Gehaltes in Blut und Plasma bestimmt. Zusätzlich wurde der Urin fraktioniert über 24 Stunden gesammelt und TMP und Thiamin darin bestimmt. Als Nebenzielparameter der Bioverfügbarkeit diente die Bestimmung der erythrozytären Transketolaseaktivität (ETK) und deren *in-vitro*-Aktivierbarkeit (α -ETK) jeweils vor als auch 10 Stunden nach Applikation der Prüfmedikation. Die kompartiment-unabhängige Auswertung der postabsorptiven Konzentrations-Zeit-Kurven umfasste die Berechnung von AUC, C_{\max} , t_{\max} und oraler Clearance (CL_{oral}). Soweit möglich, wurde anhand der Urindaten die renale Clearance (CL_R) für Thiamin $^{\Sigma}$ berechnet. Nach Gabe von BTMP konnten signifikant größere Werte der AUC und C_{\max} für Thiamin $^{\Sigma}$ im Vollblut und Plasma ermittelt werden. Die CL_{oral} von T-NO $_3$ war mit $4993 \pm 5222 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$ signifikant gegenüber der nach BTMP mit $481 \pm 174 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$ erhöht. Der Anteil von CL_R an CL_{oral} betrug im Durchschnitt 1,27 % nach BTMP bzw. 0,13 % nach T-NO $_3$. Die Patienten mit Restdiurese schieden im Durchschnitt $0,98 \pm 1,0\%$ der verabreichten Dosis nach BTMP und $0,08 \pm 0,11 \%$ nach T-NO $_3$, berechnet jeweils als Thiamin $^{\Sigma}$, aus. Die AUC_{TDP} im Blut, berechnet mittels linearer Trapezregel von 0 bis 24h, war nach BTMP 4,3mal größer als nach T-NO $_3$. Die TDP-Konzentration in den Erythrozyten stieg nach 24 Stunden von $158,7 \pm 30,9 \text{ ng/ml}$ auf $325,8 \pm 50,9 \text{ ng/ml}$ nach BTMP und von $166,2 \pm 51,9 \text{ ng/ml}$ auf $200,5 \pm 50,0 \text{ ng/ml}$ nach T-NO $_3$ an. Dies entspricht einer Steigerung um 111% bzw. 23% gegenüber dem Ausgangswert vor Applikation. Das Verhältnis zwischen maximaler und basaler erythrozytärer TDP-Konzentration betrug $2,66 \pm 0,6$ nach BTMP und $1,44 \pm 0,2$ nach T-NO $_3$ (Gruppenvergleich: $p < 0,001$). In der BTMP-Gruppe erhöhte sich die ETK von $3,54 \pm 0,7 \mu\text{kat/l}$ vor Applikation auf $3,84 \pm 0,6 \mu\text{kat/l}$ nach 10 Stunden ($p < 0,05$) und von $3,71 \pm 0,81 \mu\text{kat/l}$ auf $4,02 \pm 0,67 \mu\text{kat/l}$ ($p < 0,05$) in der T-NO $_3$ -Gruppe. Entsprechend verminderte sich der Aktivierungskoeffizient α -ETK in der BTMP-Gruppe von $1,10 \pm 0,07$ auf $1,04 \pm 0,04$ ($p < 0,05$) und von $1,12 \pm 0,05$ auf $1,08 \pm 0,06$ (n.s.) in der T-NO $_3$ -Gruppe. Weder vor Applikation der Prüfmedikation noch 10 Stunden danach bestand zwischen der erythrozytären TDP-Konzentration und ETK bzw. α -ETK eine Korrelation. Das verwendete offene Mehrkompartiment-Modell mit Submodellen gestattete die komplexe Darstellung der Verteilung und Interaktion der Phosphorsäureester des Thiamins, indem die Datensätze von Thiamin $^{\Sigma}$ im Plasma (zentrales Kompartiment), TDP in den Erythrozyten und TMP im Blut (periphere Kompartimente) simultan angepasst wurden. Die mittleren Verteilungsvolumina von Thiamin $^{\Sigma}$ (gewichtsnormalisiert), TDP und TMP betragen in der Reihenfolge 28 l ($0,38 \text{ l/kg}$)/1,45 l und 29,3 l nach BTMP sowie 265 l ($3,4 \text{ l/kg}$)/38,6 l und 111 l nach T-NO $_3$. Die MRT von Thiamin $^{\Sigma}$, TDP und TMP wurde in der angegebenen Reihenfolge mit 17,8/25,9 und 26,0 h nach BTMP und mit 17,0/24,8 und 24,9 h nach T-NO $_3$ berechnet. Die AUC

betrug 2270/5310 und 263 ng·h/ml nach BTMP und 405/1000 und 87,8 ng·h/ml nach T-NO₃. Die Massenflussparameter (Geschwindigkeitskonstanten) nach Gabe von BTMP lauten 0,77 h⁻¹ für die Pyrophosphorylierung zu TDP, jeweils 15 h⁻¹ für die Dephosphorylierung zu TMP und Thiamin, 1,05 h⁻¹ für die Verteilung von Thiamin ins Gewebe sowie 15 h⁻¹ für die Verteilung von TDP ins Gewebe. Die Geschwindigkeitskonstanten nach Gabe von T-NO₃ lauten in der gleichen Reihenfolge: 1,24 h⁻¹, 3,77 h⁻¹ und 15 h⁻¹ sowie 0,23 h⁻¹ und 6,92 h⁻¹. Nach dem Metaboliten-Modell, welches die Simulation des Thiaminverlaufs im Gewebekompartiment gestattete, werden maximale Gewebekonzentrationen jeweils 11-12 Stunden nach Applikation erreicht. Trotz der beobachteten Unterschiede ergab die Anpassung der Individualkurven aufgrund der großen Varianz keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den verabreichten Präparaten, d.h. die Verteilung des aus BTMP entstehenden Thiamins und nativen Thiamins verläuft mit gleicher Gesetzmäßigkeit. Die Ergebnisse zeigen insgesamt eine bessere Bioverfügbarkeit von BTMP, wie sie auch bei Gesunden beobachtet wurde. Das im Vergleich zu Gesunden sehr große Ausmaß und auch die hohe Rate der intrazellulären Retention des TDP und Deposition des Thiamins im Gewebe– sowohl nach Gabe von BTMP als auch nach T-NO₃ - kompensieren die reduzierte tubuläre Sekretionsleistung bei urämischen Patienten und dienen dazu, dass Steady-State der Blutkonzentrationen aufrecht zu erhalten.

zu 2)

Die unizentrische Gruppenvergleichsstudie wurde mit 14 CRF-Patienten im Stadium der kompensierten Retention (GFR < 60 ml/min, Scr > 300 µmol/l, Altersmedian: 59 J., Median BMI: 24,6 kg/m²), 19 RT-Patienten (50 J., 24,2 kg/m²) und 24 DP (53 J., 23,5 kg/m²) durchgeführt. Eine einmalige Blutentnahme erfolgte zur Bestimmung des Thiamin^Σ-Gehaltes im Plasma mittels HPLC und zur Bestimmung von α-ETK. Zusätzlich wurde eine 24-h-Harnsammlung durchgeführt. Die durchschnittliche tägliche Thiaminzufuhr basierte auf der Kalkulation anhand des BLS II.2. Die DP wurden entsprechend der Höhe der Thiaminsupplementierung in zwei Gruppen eingeteilt: Gruppe 1 (N=15) erhielt dreimal wöchentlich eine orale Thiaminsupplementierung in Höhe von 1,5 mg („Ren-O-Vit[®]“), Gruppe 2 (N=9) erhielt mit gleicher Frequenz eine orale Dosis in Höhe von 8,0 mg („Dreisavit[®]“). Bei den supplementierten DP wurde dreimal Blut entnommen: unmittelbar vor Beginn und nach Beendigung der Dialyse sowie vor Beginn der nächsten Dialyse. Nach einer Unterbrechung der Vitaminsupplementierung für 14 Tage wurden nach diesem Schema bei den DP (N=24) erneut drei Blutentnahmen vorgenommen und jeweils vor der ersten und zweiten Dialysebehandlung eine 24-h-Harnsammlung durchgeführt. Die durchschnittliche Thiaminzufuhr betrug in der Reihenfolge CRF, RT, DP+1,5 mg, DP+8,0 mg und DP ohne Supplementierung (DPoS) 1,26 ± 0,42/ 1,42 ± 0,34/1,69 ± 0,35/4,39 ± 0,3 mg und 0,83 ± 0,3 mg. Die DPoS hatten im Gruppenvergleich die geringste Thiaminzufuhr (p<0,05). Die entsprechenden Plasmakonzentrationen

nen waren mit $21,6 \pm 8,2/18,9 \pm 8,0/23,1 \pm 8,6/31,8 \pm 18,6$ und $26,4 \pm 20,4$ ng/ml statistisch nicht signifikant verschieden. Auch α -ETK war mit $1,18 \pm 0,19/1,22 \pm 0,16/1,11 \pm 0,11/1,19 \pm 0,11$ und $1,13 \pm 0,14$ im Gruppenvergleich nicht signifikant verschieden. Die Prävalenz niedriger Vitaminmesswerte (α -ETK > 1,25) betrug $30,7/36,9/6,7/33,3$ und 17,4%. Die Harnausscheidung betrug $50,3 \pm 50,8/194,7 \pm 126,9/3,0 \pm 4,4/1,8 \pm 2,4$ und $3,3 \pm 3,8$ μ g, davon war die Harnausscheidung der RT-Patienten signifikant höher als die der anderen Patienten und erreichte ca. 50% des Wertes bei Gesunden. Weder Alter, Geschlecht, noch der Grad der Nierenfunktion beeinflusste den Thiaminstatus. Während bei den DP+1,5mg und DP+8,0mg nach einer einzelnen HD-Behandlung ein nicht-signifikanter Abfall der Thiamin^Σ-Plasmakonzentration auf 75 bzw. 82% des Ausgangswertes beobachtet werden konnte, wurde bei den unsupplementierten DP eine ebenfalls nicht signifikante Erhöhung der Konzentration auf durchschnittlich 131% festgestellt. Nach 44 Stunden erreichten die Plasmakonzentrationen der supplementierten Patienten 110 bzw. 97% des Ausgangswertes; bei den unsupplementierten Patienten verblieben diese auf einem Niveau von durchschnittlich 133% des Ausgangswertes. Der Aktivierungskoeffizient der Transketolase blieb dagegen nahezu unbeeinflusst. Es zeigte sich, dass die Verwendung von Membranen mit höherer Molekülausschlussgrenze zu einer signifikant stärkeren Reduktion der Plasmakonzentrationen führte als bei Verwendung von Membranen mit kleinerer Molekülausschlussgrenze. Eine ausreichende diätetische Betreuung allein kann einen ausreichenden Thiaminstatus bei niereninsuffizienten Patienten bewirken. Die HD-Patienten erfahren zwar durch die Dialyse eine Reduktion der Plasmaspiegel, dennoch übersteigt dieser Verlust den durch die normale Urinausscheidung bedingten nicht wesentlich und kann u.a. durch Umverteilungsprozesse aus dem Gewebe rasch ausgeglichen werden. Aufgrund der verringerten Gesamtenergiezufuhr ist bei den DP zur langfristigen Sicherung der Thiaminversorgung eine Supplementierung in Höhe der RDA zu empfehlen, insbesondere dann, wenn zur Behandlung High-Flux-Membranen eingesetzt werden.

zu 3)

An je 21 männliche Patienten (Alter: 18-40 J., Gewicht: 70-90 kg \pm 10%), die ein repräsentatives Klientel einer neurologischen Krankenhausabteilung bildeten und bei denen aus diagnostischen Gründen eine Lumbalpunktion vorgenommen werden muss, wurde unter klinischen Praxisbedingungen eine intramuskuläre Injektion von 100 mg Thiaminhydrochlorid (T-HCl) („Betabion, Injektionslösung“, entsprechen 78,9 mg Thiamin, berechnet als Base) und 150 mg BTMP p.o. („milgamma 150 Dragees“, entsprechen 85,7 mg Thiamin, berechnet als Base) appliziert. Da in jeder Gruppe jeder Patient nur einmal zwischen dem 3. und 5. Lendenwirbel punktiert wurde, setzten sich die Entnahmezeiten von 0,3/0,6/1,0/3,0/6,0/10,0 und 24,0 Stunden nach Applikation aus jeweils drei verschiedenen Patienten zusammen. Bei einer weiteren Patientengruppe (N=20) wurde daher zu-

sätzlich die Höhe der physiologischen Thiaminkonzentration im Liquor ($t=0$ h) bestimmt. Der Konzentrations-Zeit-Verlauf von Thiamin und seinen Phosphateestern sowie deren Summe (Thiamin $^{\Sigma}$) wurde in Plasma, Blut und Liquor mittels HPLC bestimmt. Im Liquor betrug der Anteil phosphorylierten Thiamins, das fast ausschließlich von TMP gebildet wurde, 66% des Gesamtthiamins, was aufgrund der diagnostischen Bedeutung dieses Verhältnisses auf eine intakte Funktion der Blut-Hirn-Schranke hinweist. Die Thiamin $^{\Sigma}$ -Konzentration im Liquor stieg von $14,3 \pm 5,2$ ng/ml auf einen Maximalwert von $50,9 \pm 3,1$ ng/ml nach T-HCl ($t_{\max} = 10$ h) bzw. auf $44,0 \pm 12,5$ ng/ml nach BTMP an ($t_{\max} = 10$ h). Die C_{\max} im Liquor waren im Gruppenvergleich nicht signifikant verschieden. Nach der oralen Dosis übertrafen die maximalen TDP-Konzentrationen im Blut die basalen Konzentrationen um 79%, nach dem i.m.-Bolus um 80%. Nach der oralen Gabe wurden die maximalen TDP-Konzentrationen 3 Stunden früher erreicht als nach dem i.m.-Bolus. Nach 24 Stunden war die mittlere TDP-Konzentration noch um 45% gegenüber der nach dem i.m.-Bolus erreichten erhöht ($p < 0,05$). Die AUC von TDP im Blut sowie von Thiamin $^{\Sigma}$ in Plasma und Liquor, berechnet mittels linearer Trapezregel, betragen in der angegebenen Reihenfolge 494/767 und 459 ng·h/ml nach BTMP und 501/2101 und 557 ng·h/ml nach T-HCl. Damit betrug F von BTMP 0,365/0,894 und 0,824. Das verwendete offene Drei-Kompartiment-Modell gestattete die komplexe Darstellung der Verteilung und Phosphorylierungs-/Dephosphorylierungsdynamik des Thiamins, indem die Datensätze von Thiamin $^{\Sigma}$ im Plasma (zentrales Kompartiment), TDP im Blut und Thiamin $^{\Sigma}$ im Liquor (periphere Kompartimente) simultan angepasst wurden. Die Verteilungsvolumina von Thiamin $^{\Sigma}$ im Plasma, TDP und Thiamin $^{\Sigma}$ im Liquor betragen in der Reihenfolge 159/1,32 und 2800 l nach BTMP und 1,98/659 und 0,134 l nach T-HCl. Die Massenflussrate für den Thiamintransfer in den Liquor ist nach Gabe von BTMP mehr als 800fach so groß wie nach dem i.m.-Bolus, was im Sinne einer starken Permeationsfähigkeit der Blut-Hirn-Schranke zu werten ist. Da fast äquimolare Dosen gegeben wurden, sind die Ergebnisse überdies eindeutig Beleg dafür, dass die orale Applikation von BTMP, dessen Anwendung in der klinischen Praxis sich darüber hinaus erneut als sicher und effizient erwiesen hat, zu einer deutlich besseren Bioverfügbarkeit im Liquor führt. Die parenterale Applikation hoher Thiamindosen kann in Zukunft durch die orale Gabe von BTMP vollständig ersetzt werden.

Im Ergebnis dieser Arbeit konnten wichtige biokinetische Daten für Thiamin erhoben werden, die für diesen Nährstoff beim Menschen bisher nur lückenhaft vorhanden waren, gerade zur Charakterisierung des metabolischen Verhaltens im therapeutischen Bereich aber eine große Relevanz besitzen.

LITERATURVERZEICHNIS

- ALLMAN, M.A. (1989) Vitamin supplementation of patients receiving haemodialysis *Med. J. Aust.* **150**(3), 130-133.
- ANONYM (1977) Teilband Körperflüssigkeiten. In *Wissenschaftliche Tabellen Geigy* (Edited by Ciba-Geigy AG), 8th Ed., Basel.
- ANONYM (1987) APV-Richtlinie: Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit, Bioäquivalenz *Generika APV-Richtlinie*, XI-XIII.
- ANONYM (1996) Benfogamma - Benfotiamin bei alkoholischer Polyneuropathie und dem Wernicke-Korsakow-Syndrom. In *Wissenschaftliche Basisinformation* (Edited by Wörwag Pharma GmbH).
- ANONYM (2000a) Rote Liste 2000. Arzneimittelverzeichnis für Deutschland (einschließlich EU-Zulassungen). (Edited by Rote Liste Service GmbH). ECV Editio Cantor, Aulendorf.
- ANONYM (2000b) Thiamin. In *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline* (Edited by Institute of Medicine), pp. 58-86. National Academy Press, Washington D.C..
- ARIAEY-NEJAD, M.R., BALGHI, M., BAKER, E.M. & SAUBERLICH, H.E. (1970) Thiamin metabolism in man *Am. J. Clin. Nutr.* **23**(6), 764-778.
- BAILEY, A.L., FINGLAS, P.M., WRIGHT, A.J.A. & SOUTON, S. (1994) Thiamin intake, erythrocyte transketolase activity and total erythrocyte thiamine in adolescents *Br. J. Nutr.* **72**, 111-125.
- BAINES, M. & DAVIES, G. (1988) The evaluation of erythrocyte thiamin diphosphate as an indicator of thiamin status in man, and its comparison with erythrocyte transketolase activity measurements *Ann. Clin. Biochem.* **25**(11), 698-705.
- BAKER, H. & FRANK, O. (1976) Absorption, utilization and clinical effectiveness of al-lithiamines compared to water-soluble thiamines *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **22** (Suppl.), 63-68.
- BAKER, H., THOMSON, A.D., FRANK, O. & LEEVY, C.M. (1974) Absorption and passage of fat- and water-soluble thiamin derivatives into erythrocytes and cerebrospinal fluid of man *Am. J. Clin. Nutr.* **27**(7), 676-680.
- BARILE, M., VALENTI, D., BRIZIO, C., QUAGLIARIELLO, E. & PASSARELLA, S. (1998) Rat liver mitochondria can hydrolyse thiamine pyrophosphate to thiamine monophosphate which can cross the mitochondrial membrane in a carrier-mediated process *FEBS Letters* **435**, 6-10.
- BÄSSLER, K. H., GOLLY, I., LOEW, D. & PIETRZIK, K. (1997) Thiamin (Vitamin B1). In *Vitamin-Lexikon für Ärzte* (Edited by Bäessler, K. H., Golly, I., Loew, D. & Pietrzik, K.), 2nd Ed., pp. 44-69. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart; Jena; Lübeck; Ulm.
- BAYLISS, R.M., BROOKS, R., MCCULLOCH, J., KUYL, J.M. & METZ, J. (1984) Urinary thiamine excretion after oral physiological doses of the vitamin *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **54**, 161-164.
- BERGSTRÖM, J. (1995) Nutrition and mortality in hemodialysis *J. Amer. Soc. Nephrol.* **6**, 1329-1341.
- BERMAN, K. & FISHMAN, K.A. (1975) Thiamine phosphate metabolism and possible coenzyme-independent functions of thiamine in brain *J. Neurochem.* **24**, 457-465.
- BERNSTEIN, H.-G. (1997) Grundlagen zum Wirkungsmechanismus von Benfotiamin *Vortrag auf "Benfotiamin - state of the art"-Symposium. Stuttgart 1997.*
- BERTHOUX, F., GELLERT, R., JONES, E., MENDEL, S., VALDERRABANO, F., BRIGGS, D., CARRERA, F., CAMBI, V. & SAKER, L. (1998) Epidemiology and demography of treated end-stage renal failure in the elderly: from the European Renal Association (ERA-EDTA) Registry *Nephrol. Dial. Transplant.* **13** Suppl., 65-68.
- BETTENDORFF, L. (1991) Application of high-performance liquid chromatography to the study of thiamine metabolism and in particular thiamine triphosphatase *J. Chromatogr.* **566**, 397-408.
- BETTENDORFF, L. (1996) A non-cofactor role of thiamine derivatives in excitable cells? *Arch. Physiol. Biochem.* **104**(6), 745-751.

- BETTENDORFF, L., SLUSE, F., GOESSENS, G., WINS, P. & GRISAR, T. (1995) Thiamine deficiency-induced partial necrosis and mitochondrial uncoupling in neuroblastoma cells are rapidly reversed by addition of thiamine *J. Neurochem.* **65**(5), 2178-2184.
- BGVV-HEFTE (02/1996) Der Bundeslebensmittelschlüssel (BLS II.2), Konzeption, Aufbau und Dokumentation der Datenbank blsd. (Edited by Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin), Berlin.
- BITSCH, R. & BITSCH, I. (1989) Lipidlösliche Thiaminderivate - Wirkungsweise und Anwendungsmöglichkeiten *Dt. Apothekerzeitung*(2), 65-68.
- BITSCH, R., WOLF, M., MÖLLER, J., HEUZEROTH, L. & GRÜNEKLEE, D. (1991) Bioavailability assessment of the lipophilic benfotiamine as compared to a water-soluble thiamin derivative *Ann. Nutr. Metab.* **35**, 292-296.
- BÖHM, V., TIROKE, K., SCHNEIDER, S., SPERSCHNEIDER, H., STEIN, G. & BITSCH, R. (1997) Vitamin C status of patients with chronic renal failure, dialysis patients and patients after renal transplantation *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **67**, 262-266.
- BONTEMPS, J., PHILIPPE, P., BETTENDORFF, L., LOMBET, J., DANDRIFOSSE, G. & SCHOFFENIELS, E. (1984) Determination of thiamine and thiamine phosphates in excitable tissues as thiochrome derivatives by reversed-phase high-performance liquid chromatography on octadecyl silica *J. Chromatogr.* **307**, 283-294.
- BOSTOM, A.G., SHEMIN, D., LAPANE, K.L., SUTHERLAND, P., NADEAU, M.R., WILSON, P.W.F., YOBURN, D., BAUSSERMAN, L., TOFLER, G., JACQUES, P.F., SELHUB, J. & ROSENBERG, I.H. (1996) Hyperhomocysteinemia, hyperfibrinogenemia, and lipoprotein (a) excess in maintenance dialysis patients: A matched case-control study *Atherosclerosis* **125**(1), 91-101.
- BOSTOM, A.G. & LATHROP, L. (1997) Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: prevalence, etiology, and potential relationship to atherosclerotic outcomes *Kidney Int.* **52**, 10-20.
- BOSTOM, A.G., SHEMIN, D., LAPANE, K.L., MILLER, J.W., SUTHERLAND, P., NADEAU, M., SEYOUM, E., HARTMAN, W., PRIOR, R. & WILSON, P.W. (1995) Hyperhomocysteinemia and traditional cardiovascular disease risk factors in end-stage renal disease patients on dialysis: a case-control study *Atherosclerosis* **114**(1), 93-103.
- BÖTTICHER, B. & BÖTTICHER, D. (1986) Simple rapid determination of thiamin by a HPLC method in foods, body fluids, urine and faeces *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **56**, 155-159.
- BÖTTICHER, B., MEMMEL, D., HÖTZEL, D. & KLUTHE, R. (1985) Die Verwertung hoher enteraler Thiamingaben *Ernährungsumschau* **32**(7), 234.
- BÖTTICHER, D. (1991) Bestimmung und Regulierung des Vitamin-Status bei chronischer Hämodialyse. In *Ernährungsmedizin in Klinik und Praxis* (Edited by Kasper, H., Kluthe, R., Sailer, D., Schrezenmeir, J., Vestweber, K.-H. & Wolfram, G.), Vol. 4. Dustring-Verlag Dr. Karl Feistle, München-Deisenhofen.
- BRESSOLLE, F., BROMET-PETIT, M. & AUDRAN, M. (1996) Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods. Application to pharmacokinetics *J. Chromatogr. B* **686**, 3-10.
- BRUNNEKREEFT, J.W.I., EIDHOF, H. & GERRITS, J. (1989) Optimized determination of thiochrome derivatives of thiamine and thiamine phosphates in whole blood by reversed-phase liquid chromatography with precolumn derivatization *J. Chromatogr.* **491**, 88-96.
- BUNDESINSTITUT FÜR ARZNEIMITTEL UND MEDIZINPRODUKTE (1998) Empfehlungen zur Planung, Durchführung und Auswertung von Anwendungsbeobachtungen *Bundesanzeiger Nr. 229*, 4.12.1998.
- CABANA, B.E. (1976) Importance of biopharmaceutics and pharmacokinetics in clinical medicine *Arzneimittelforschung* **26**(1a), 151-158.
- CASIROLA, D., FERRARI, G., GASTALDI, G., PATRINI, C. & RINDI, G. (1988) Transport of thiamine by brush-border membrane vesicles from rat small intestine *J. Physiol. (Lond)* **398**, 329-339.
- CHEN, M.F., BOYCE JR., H.W., BARRY, P.P. & AMONTREE, J.S. (1986) Blood levels of thiamin in older Americans in relation to

- the magnesium concentration *Nutr. Rep. Internal* **38**, 559-564.
- COOPER, J.R. & PINCUS, J.H. (1979) The role of thiamine in nervous tissue *Neurochem. Res.* **4**, 223-239.
- DANNHARDT, G. & EGER, K. (1985) Thiamin - Vitamin, Arzneistoff und Reagenz in der organischen Chemie *Pharmazie in unserer Zeit* **14**(6), 177-188.
- DAVIS, R.E. & ICKE, G.C. (1983) Clinical chemistry of thiamin *Adv. Clin. Chem.* **23**, 93-138.
- DE BOER, A.G. & BREIMER, D.D. (1994) The blood-brain barrier: clinical implications for drug delivery to the brain *J. R. Coll. Physicians Lond.* **28**, 502-506.
- DEBARI, V.A., FRANK, O., BAKER, H. & NEEDLE, M.A. (1984) Water soluble vitamins in granulocytes, erythrocytes, and plasma obtained from chronic hemodialysis patients *Am. J. Clin. Nutr.* **39**, 410-415.
- DESCOMBES, E. (1991) Acute encephalopathy due to thiamine deficiency (Wernicke's encephalopathy) in a chronic hemodialyzed patient: a case report *Clin. Nephrol.* **35**(4), 171-175.
- DESCOMBES, E., HANCK, A.B. & FELLAY, G. (1993) Water soluble vitamins in chronic hemodialysis patients and need for supplementation *Kidney Int.* **43**, 1319-1328.
- DREYFUS, P.M. (1976) Thiamine and the nervous system: an overview *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **22** (Suppl.), 13-16.
- FAYOL, V. (1997) High-Performance liquid chromatography determination of total thiamin in biological and food products *Methods Enzymol.* **279**, 57-66.
- FICHTL, B., FÜLGRAFF, G., NEUMANN, H.-G., WOLLENBERG, P., FORTH, W., HENSCHLER, D., RUMMEL, W. (1996) Allgemeine Pharmakologie und Toxikologie. In *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie* (Edited by Forth, W., Henschler, D., Rummel, W. & Starke, K.), 7th Ed., pp. 3-102. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; Berlin; Oxford.
- FINGLAS, P.M. & FAULKS, R.M. (1987) Critical review of HPLC methods for the determination of thiamin, riboflavin and niacin in food *J. Micronutr. Analysis* **3**, 251-283.
- FLISER, D., BISCHOFF, I., HANSES, A., BLOCK, S., JOEST, M., RITZ, E. & MUTSCHLER, E. (1999) Renal handling of drugs in the healthy elderly. Creatinine clearance underestimates renal function and pharmacokinetics remain virtually unchanged *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **55**, 205-211.
- FLORIDI, A., PUPITA, M., PALMERINI, C.A., FINI, C. & ALBERTI FIDANZA, A. (1984) Thiamin pyrophosphate determination in whole blood and erythrocytes by high performance liquid chromatography *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **54**, 165-171.
- FOGELHOLM, G.M., HIMBERG, J.-J., ALOPAEUS, K., GREF, C.-G., LAAKSO, J.T., LEHTO, J.J. & MUSSALO-RAUHAMAA, H. (1992) Dietary and biochemical indices of nutritional status in male athletes and controls *J. Am. Coll. Nutr.* **11**(2), 181-191.
- FOGELHOLM, M., RUOKONEN, I., LAAKSO, J.T., VUORIMAA, T. & HIMBERG, J.-J. (1993) Lack of association between indices of vitamin B1, B2, and B6 status and exercise-induced blood lactate in young adults *Int. J. Sport Nutr.* **3**, 165-176.
- FRANK, T., BITSCH, R., MAIWALD, J. & STEIN, G. (1999) Alteration of thiamine pharmacokinetics by end-stage renal disease (ESRD) *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **37**(9), 449-455.
- FREI, U. & SCHOBER-HALSTENBERG, H.-J. (1998) Annual report of the German Renal Registry 1998 *Nephrol. Dial. Transplant.* **14**, 1085-1090.
- FRIEDRICH, W. (1987) Thiamin (Vitamin B1, Aneurin). In *Handbuch der Vitamine*, 1st Ed., pp. 219-260. Urban & Schwarzenberg, München; Wien; Baltimore.
- FRYDL, V. & ZAVODSKA, H. (1991) Neurologische Störungen im Vitamin-B-1-Mangel *VitaMinSpur* **6**, 157-164.
- FUJIWARA, M. (1965) Absorption, excretion and fate of thiamine and its derivatives in human body. In *Review of Japanese literature on Beriberi and Thiamine* (Edited by Shimazono, N. & Katsura, E.), pp. 179-213. Igakushoin Ltd., Tokyo.
- FUJIWARA, M., WATANABE, H. & MATSUI, K. (1954) "Allithiamine" a newly found derivative of vitamin B-1. I. Discovery of allithiamine *J. Biochem. (Tokyo)* **41**(1), 29-39.
- GEBHARDT, A. (1990) Ernährungsmedizinische Analyse der Vitaminversorgung von Dialysepatienten. In *Ernährungsmedizin in Klinik und Praxis* (Edited by Kasper, H., Kluthe, R., Sailer, D., Schrezenmeir, J., Vestweber,

- K.-H. & Wolfram, G.), Vol. 3. Dustriverlag Dr. Karl Feistle, München-Deisenhofen.
- GERRITS, J., EIDHOF, H., BRUNNEKREEFT, J.W.I. & HESSELS, J. (1997) Determination of thiamin and thiamin phosphates in whole blood by reversed-phase liquid chromatography with precolumn derivatization *Methods Enzymol.* **279**, 74-82.
- GLADKE, E. & VON HATTINGBERG, H.M. (1977) *Pharmakokinetik. Eine Einführung.*, 2nd Ed.. Springer, Berlin; Heidelberg; New York.
- GREB, A. & BITSCH, R. (1995) Thiaminresorption und Kinetik bei Gesunden und Patienten mit alkoholischer Polyneuropathie. In *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. 5. Symposium* (Edited by Schubert, R., Flachowsky, G. & Bitsch, R.), pp. 221-226. Friedrich-Schiller-Universität, Jena.
- GREB, A. & BITSCH, R. (1998) Comparative bioavailability of various thiamine derivatives after oral administration *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **36**(4), 216-221.
- GREENWOOD, J., LOVE, E.R. & PRATT, O.E. (1982) Kinetics of thiamine transport across the blood-brain barrier in the rat *J. Physiol.* **327**, 95-103.
- HAAS, R.H. (1988) Thiamin and the brain *Ann. Rev. Nutr.* **8**, 483-515.
- HAGEN, M. (1991) Konzentrationsverlauf von Thiamin im Blutplasma nach intravenöser Infusion von Thiaminhydrochlorid - Biokinetische Untersuchungen an jungen Erwachsenen. Diplomarbeit. Justus-Liebig-Universität, Giessen.
- HEINZEL, G., WOLOSZCZAK, R. & THOMANN, P. (1993) TopFit Version 2.0 - Pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis system for the PC. Gustav Fischer, Stuttgart; Jena; New York.
- HEROUX, M., RAGHAVENDRA RAO V.L., LAVOIE, J., RICHARDSON, J.S. & BUTTERWORTH, R.F. (1996) Alterations of thiamine phosphorylation and of thiamine-dependent enzymes in Alzheimer's disease *Metab. Brain Dis.* **11**.
- HERVE, C., BEYNE, P. & DELACOUX, E. (1994) Determination of thiamine and its phosphate esters in human erythrocytes by high-performance liquid chromatography with isocratic elution *J. Chromatogr. B* **653**, 217-220.
- HERVE, C., BEYNE, P., LETTERON, PH. & DELACOUX, E. (1995) Comparison of erythrocyte transketolase activity with thiamine and thiamine phosphate ester levels in chronic alcoholic patients *Clin. Chim. Acta* **234**, 91-100.
- HESEKER, H. (1988) Stoffwechsel und Funktion der Vitamine B1, B6 und B12. In *Klinische Bedeutung von Vitamin B1, B6, B12 in der Schmerztherapie* (Edited by Zöllner, N., Fassl, H., Jurna, I., Pietrzik, K.F. & Schattenkirchner, M.), pp. 3-20. Steinkopff, Darmstadt.
- HESEKER, H., ADOLF, T., EBERHARDT, W., HARTMANN, S., HERWIG, A., KÜBLER, W., MATIASKE, B., MOCH, K. J., NITSCHKE, A., SCHNEIDER, R. & ZIPP, A. (1994) Vitaminaufnahme. In *Lebensmittel- und Nährstoffaufnahme Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland (VERA-Schriftenreihe Bd. III)* (Edited by Kübler, W., Anders, H.-J., Heeschen, W. & Kohlmeier, M.), 2nd Ed., pp. 177-178. Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen.
- HESEKER, H., SCHNEIDER, R., MOCH, K. J., KOHLMEIER, M. & KÜBLER, W. (1992) Vitaminmeßwerte. In *Vitaminversorgung Erwachsener in der Bundesrepublik Deutschland (VERA-Schriftenreihe Bd. IV)* (Edited by Kübler, W., Anders, H.-J., Heeschen, W. & Kohlmeier, M.), IV Vol., p. 110. Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen.
- HILBIG, R. & RAHMANN, H. (1998) Comparative autoradiographic investigations on the tissue distribution of benfotiamine versus thiamine in mice *Drug Res.* **48**(5), 461-468.
- HÖTZEL, D. (1988) Editorial über Thiamin *Akt. Ernähr.* **13**, 37-42.
- HOUSER, H.B., MYINT, T. & WEIR, D.R. (1965) Estimation of red blood cell thiamine concentration from whole blood and serum thiamine by adjustment for hematocrit *Am. J. Clin. Nutr.* **20**(1), 46-51.
- HOYUMPA, A.M., STRICKLAND, R., SHEEHAN, J.J., YARBOROUGH, G. & NICOLS, S. (1982) Dual system of intestinal transport in humans *J. Lab. Clin. Med.* **99**, 701-709.
- HU, M.L. (1995) The antioxidant and prooxidant activity of some B vitamins and vita-

- min-like compounds *Chem. Biol. Interact.* **97**(1), 63-73.
- IKIZLER, T. A. & HAKIM, R. M. (1996) Nutrition in end-stage renal disease *Kidney Int.* **50**(2), 343-357.
- IKIZLER, T. A. & HAKIM, R. M. (1998) Nutritional requirements of hemodialysis patients. In *Handbook of nutrition and the kidney* (Edited by Mitch, W. E. & Klahr, S.), 3rd Ed., pp. 253-268. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
- ISHII, K., SARAI, K., SANEMORI, H. & KAWASAKI, T. (1979) Analysis of thiamine and its phosphate esters by high-performance liquid chromatography *Anal. Biochem.* **97**, 191-195.
- ITOKAWA, Y. & IGARASHI, S. (1992) Changes in blood concentrations and urinary excretion of vitamin B-1 following single oral administration of liquid preparations containing thiamin tetrahydrofurfuryl disulfide or thiamin to healthy male adults *Vitamins (Japan)* **66**, 533-539.
- ITOKAWA, Y., NISHINO, K. & IGARASHI, S. (1992) Evaluation of thiamin derivatives - human bioavailability, uptake by human blood cells and conversion to thiamin by rat liver homogenate *Vitamins (Japan)* **66**, 35-42.
- JERMENDY, G. & KEMPLER, P. (1997) The specific therapy of neuropathy. In *Neuropathies* (Edited by Kempler, P.), pp. 145-151. Springer, Budapest; Berlin; Heidelberg; New York.
- JUNG, U., HELBICH-ENDERMANN, M., BITSCH, R., SCHNEIDER, S. & STEIN, G. (1998) Are patients with chronic renal failure (CRF) deficient in biotin and is regular biotin supplementation required? *Z. Ernährungswiss.* **37**, 363-367.
- KAWASAKI, T. (1992a) Thiamin. In *Modern chromatographic analysis of vitamins* (Edited by De Leenheer, A.P., Lambert, W.E. & Nelis, H.J.), 2nd Ed., pp. 319-354. Marcel Dekker, New York; Basel; Hong Kong.
- KAWASAKI, T. (1992b) Thiamin triphosphate synthesis in animals *J. Nutr. Sci. Vitaminol. Spec No.* **383-386**.
- KAYSER, G. A. (1998) Albumin turnover in renal disease *Miner. Electrolyte Metab.* **24**, 55-63.
- KEMPLER, P., KERESZTES, K., KOMOLY, S. & WINKLER, G. (1997) The aetiology of neuropathies. In *Neuropathies* (Edited by Kempler, P.), pp. 38-48. Springer, Budapest; Berlin; Heidelberg; New York.
- KINIRONS, M.T. & CROME, P. (1997) Clinical pharmacokinetic considerations in the elderly - an update *Clin. Pharmacokinet.* **33**(4), 302-312.
- KITAMORI, N. & ITOKAWA, Y. (1993) Pharmacokinetics of thiamin after oral administration of Thiamin Tetrahydrofurfuryl Disulfide to humans *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **39**, 465-472.
- KOPPLE, J.D. & SWENDSEID, M.E. (1975) Vitamin nutrition in patients undergoing maintenance hemodialysis *Kidney Int.* **7** (Suppl.2), 79-84.
- KOPPLE, J.D., DIRIGE, O.V., JACOB, M., WANG, M. & SWENDSEID, M.E. (1972) Transketolase activity in red blood cells in chronic uremia *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs* **18**, 250-256.
- KÖRTZINGER, I., BIERWAG, A., MAST, M. & MÜLLER, M.J. (1997) Dietary underreporting: validity of dietary measurements of energy intake using a 7-day dietary record and a diet history in non-obese subjects *Ann. Nutr. Metab.* **41**, 37-44.
- KROMIDAS, S., KLINKNER, R. & MERTENS, R. (1995) Methodvalidierung im analytischen Labor *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **43**(6), 669-676.
- KÜBLER, W. (1989) Biokinetik als Instrument der Ernährungsforschung *Ernährungsumschau* **36**(7), 248-253.
- KURIYAMA, M. (1980) Erythrocyte transketolase activity in uremia *Clin. Chim. Acta* **108**(2), 169-177.
- LACOUR, B., PARRY, C., DRUEKE, T., TUOAM, M., KREIS, H., BAILLY, M. & DURAND, D. (1983) Pyridoxal 5'-phosphate deficiency in uremic undialysed, hemodialysed, and non-uremic kidney transplant patients *Clin. Chim. Acta* **127**, 205-215.
- LANGE, K., LONERGAN, E.T., SEMAR, M. & STERZEL, R.B. (1971) Transketolase inhibition as a mechanism in uremic neuropathy *Trans. Assoc. Am. Physicians* **84**, 172-181.
- LEE, B.L., ONG, H.Y. & ONG, C.N. (1991) Determination of thiamine and its phosphate esters by gradient-elution high-performance liquid chromatography *J. Chromatogr.* **567**, 71-80.

- LOEW, D. (1996) Pharmacokinetics of thiamine derivatives especially of benfotiamine *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **34**(2), 47-50.
- LONERGAN, E.T. (1970) Transketolase activity in uremia *Arch. Intern. Med.* **126**(5), 851-854.
- LONERGAN, E.T., SEMAR, M., STERZEL, R.B., TRESER, G., NEEDLE, M.A., VOYLES, L. & LANGE, K. (1971) Erythrocyte transketolase activity in dialyzed patients *N. Engl. J. Med.* **284**(25), 1399-1403.
- MAKOFF, R. (1991) Water-soluble vitamin status in patients with renal disease treated with hemodialysis or peritoneal dialysis *J. Ren. Nutr.* **1**(2), 56-73.
- MARZO, A. & RESCIGNO, A. (1993) Pharmacokinetics of endogenous substances: Some problems and some solutions *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **18**, 77-88.
- MASCHER, H. & KIKUTA, C. (1993) High-performance liquid chromatographic determination of total thiamine in human plasma for oral bioavailability studies *J. Pharm. Sci.* **82**(1), 56-59.
- MASSON, M.R., QUINCY, C., GIRARD, P., LATER, R., BOCHU, M. & COTTE, M.-F. (1966) Etude comparative du taux de thiaminémie pres injection de chlorhydrate de thiamine et prise per os de Benfotiamine *Lyon Med.* **216**(41), 685-704.
- MASTROGIACOMO, F., BETTENDORFF, L., GRISAR, T. & KISH, S. J. (1996) Brain thiamine, its phosphate esters, and its metabolizing enzymes in Alzheimer's disease *Ann. Neurol.* **39**(5), 585-591.
- MEADOR, K.J., NICHOLS, M.E., FRANKE, P., DUSTIN, M.W., OBERZASS, B.A., MOOSE, E.E. & LORING, D.W. (1993) Evidence for a central cholinergic effect of high-dose thiamin *Ann. Neurol.* **34**, 724-726.
- MESTYAN, I., JOBST, K., HAZAFI, K. & GREEN, A. (1986) Erythrocyte transketolase activity in patients with chronic renal disease *Acta Med. Hung.* **43**(3), 315-319.
- MINAR, E., ZAZGORNİK, J., BAYER, P.M., LANSCHUTZER, H., MENGELE, K. & MAROSI, L. (1984) [Hematologic changes in patients under long-term hemodialysis and hemofiltration treatment with special reference to serum concentrations of folic acid and vitamin B 12] *Schweiz. Med. Wochenschr.* **114**, 48-53.
- MOORE, K. (1997) The hepatorenal syndrome *Clin. Sci.* **92**(5), 433-443.
- MYDLIK, M., DERZSIOVA, K. & TACAC, M. (1986) Vitamins and regular dialysis treatment *J. Eur. Soc. Artif. Organs* **3**(Suppl.I), 86-90.
- NAUTI, A., PATRINI, C., REGGIANI, C., MERIGHI, A., BELLAZZI, R. & RINDI, G. (1997) In vivo study of the kinetics of thiamine and its phosphoesters in the deaf-ferented rat cerebellum *Metab. Brain Dis.* **12**(2), 145-160.
- NETZEL, M. (1997) Zur Verfügbarkeit, Metabolisierung und Wirkung von S-Benzoylthiamin-O-monophosphat während und nach einer chronischen Ethanolzufuhr - Untersuchungen am Tiermodell. Dissertation. Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen.
- NICHOLS, H.K. & BASU, T.K. (1994) Thiamin status of the elderly: Dietary intake and thiamin pyrophosphate response *Am. J. Coll. Nutr.* **13**, 57-61.
- NIWA, T., ITO, T., MATSUI, E., ISHIGURO, I. & KUWATA, S. (1975) Plasma level and transfer capacity of thiamin in patients undergoing long-term hemodialysis *Am. J. Clin. Nutr.* **28**, 1105-1109.
- NOGAMI, H., HANANO, M., AWAZU, S. & FUWA, T. (1970) Absorption and excretion of drugs, XVIII. Pharmacokinetics of thiamine derivatives, II. Elimination of thiamine derivatives from the blood of rat *Chem. Pharm. Bull.* **18**(10), 1937-1944.
- OHTA, H., BABA, T., SUZUKI, Y. & OKADA, E. (1984) High-performance liquid chromatographic analysis of thiamine in rice flour with fluorimetric post-column derivatization. *J. Chromatogr.* **284**, 281-284.
- PARDRIDGE, W.M. (1999) Blood-brain barrier biology and methodology *J. Neurovirol.* **5**, 556-569.
- PASTAN, S. & BAILEY, J. (1998) Dialysis therapy *N. Engl. J. Med.* **338**, 1428-1437.
- PIETRZAK, I. (1995a) Thiamine blood level and erythrocyte transketolase activity in continuous ambulatory peritoneal dialysis and intermittent peritoneal dialysis patients *Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska [Med]* **50**, 197-203.
- PIETRZAK, I. (1995b) Vitamin disturbances in chronic renal insufficiency. I. Water soluble vitamins *Przegl. Lek.* **52**(10), 522-525.
- PIETRZAK, I. & BACZYK, K. (1997) Comparison of the thiamine level in blood and

- erythrocyte transketolase activity in hemodialyzed and nondialyzed patients during recombinant human erythropoietin therapy *Miner. Electrolyte Metab.* **23**, 277-282.
- PIETRZAK, I. & BACZYK, K. (1998) Effect of thiamine pyrophosphate supplementation on peripheral neuropathy in HD patients *Wien. Klin. Wochenschr. Suppl.* **110**(15), 34-35.
- PIETRZIK, K. & REMER, T. (1989) Zur Bioverfügbarkeitsprüfung von Mikronährstoffen *Z. Ernährungswiss.* **28**, 130-141.
- POLONI, M., PATRINI, C., ROCCELLI, B. & RINDI, G. (1982) Thiamin monophosphate in the CSF of patients with amyotrophic lateral sclerosis *Arch. Neurol.* **39**, 507-509.
- POLONI, M., MAZZARELLO, P., PATRINI, C. & PINELLI, P. (1986) Inversion of T/TMP ratio in ALS: a specific finding? *Ital. J. Neurol. Sci.* **7**, 333-335.
- POLONI, M., MAZZARELLO, P., LAFORENZA, U., CARAMELLA, C. & PATRINI, C. (1992) Thiamin contents of cerebrospinal fluid, plasma and erythrocytes in cerebellar ataxias *Eur. Neurol.* **32**, 154-158.
- PORRINI, M., SIMONETTI, S., CIAPPELLANO, S., TESTOLINI, G., GENTILE, M.G., MANNA, G., FELLIN, G. & D'AMICO, G. (1989) Thiamin, Riboflavin und Pyridoxine status in chronic renal insufficiency *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **59**, 304-308.
- RAMIREZ, G., CHEN, M., WORTH BOYCE, H., FULLER, S.M., GANGULY, R., BRUEGGEMEYER, C.D. & BUTCHER, D.E. (1986a) Longitudinal follow-up of chronic hemodialysis patients without vitamin supplementation *Kidney Int.* **30**, 99-106.
- RAMIREZ, G., CHEN, M., WORTH BOYCE, H., FULLER, S.M., BUTCHER, D.E., BRUEGGEMEYER, C.D. & NEWTON, J.L. (1986b) The plasma and red cell vitamin B levels of chronic hemodialysis patients: a longitudinal study *Nephron* **42**, 41-46.
- RINDI, G., PATRINI, C. & POLONI, M. (1981) Monophosphate, the only phosphoric ester of thiamin in the cerebro-spinal fluid *Experientia* **37**, 975-976.
- RIZZO, S.C. (1969) Evaluation of the thiamine nutritional state of uremic patients by determination of erythrocyte transketolase activity *Minerva Nefrol.* **16**(4), 301-305.
- ROMERO, I. A., RIST, R. J., ALESHAIKER, A. & ABBOTT, N. J. (1997) Metabolic and permeability changes caused by thiamine deficiency in immortalized rat brain microvessel endothelial cells *Brain Res.* **756**(1-2), 133-140.
- ROYER-MORROT, M.J., ZHIRI, A., PAILLE, F. & ROYER, R.J. (1992) Plasma thiamine concentrations after intramuscular and oral multiple dosage regimens in healthy men *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **42**, 219-222.
- SACHS, L. (1997) *Angewandte Statistik.*, 8th Ed.. Springer, Berlin; Heidelberg; New York.
- SADEKOV, R.A., DANILOV, A.B. & VEIN, A.M. (1998) Diabetic polyneuropathy treatment by milgamma-100 preparation *Zh. Nevrol. Psikiatr. Im. S.S. Korsakova* **98**(9), 30-32.
- SAITO, N., KIMURA, M., KUCHIBA, A. & ITOKAWA, Y. (1987) Blood thiamin levels in outpatients with diabetes mellitus *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* **33**, 421-430.
- SAUNDERS, N.R., HABGOOD, M.D. & DZIEGIELEWSKA, K.M. (1999) Barrier mechanisms in the brain, I. Adult brain *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **26**, 11-19.
- SCHNEIDER, R. (1997) Vom Umgang mit Zahlen und Daten: Eine praxisnahe Einführung in die Statistik und Ernährungsepidemiologie. Umschau Zeitschriftenverlag Breidenstein GmbH, Frankfurt.
- SCHREEB, K. H., FREUDENTHALER, S., VORMFELDE, S. V., GUNDERT-REMY, U. & GLEITER, C. H. (1997) Comparative bioavailability of two vitamin B1 preparations: Benfotiamine and thiamine mononitrate *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **52**(4), 319-320.
- SCHÜMANN, K., CLASSEN, H. G., HAGES, M., PRINZ-LANGENOHL, R., PIETRZIK, K. & BIESALSKI, H. K. (1997) Bioavailability of oral vitamins, minerals, and trace elements in perspective *Drug Res.* **47** (I)(4), 369-380.
- SIMEONOV, S., PAVLOVA, M., MITKOV, M., MINCHEVA, L. & TROEV, D. (1997) Therapeutic efficiency of "Milgamma" in patients with painful diabetic neuropathy *Folia Med. (Plovdiv)* **39**(4), 5-10.
- SPECTOR, R. (1976) Thiamine transport in the central nervous system *Am. J. Physiol.* **230**, 1101-1107.
- STEIMER, J.-L., EBELIN, M.-E. & VAN BREE, J. (1993) Pharmacokinetic and pharmacodynamic data and models in clinical trials *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **18**(1), 61-76.
- STEIN, G., SPERSCHNEIDER, H. & KOPPE, S. (1985) Vitamin levels in chronic renal fail-

- ure and need for supplementation *Blood Purif.* **3**, 52-62.
- STONE, W.J., WARNOCK, L.G. & WAGNER, C. (1975) Vitamin B-6 deficiency in uremia *Am. J. Clin. Nutr.* **28**, 950-957.
- STRACKE, H., LINDEMANN, A. & FEDERLIN, K. (1996) A Benfotiamine - vitamin B combination in treatment of diabetic polyneuropathy *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **104**(4), 311-316.
- SULLIVAN, J.F. & EISENSTEIN, A.B. (1972) Ascorbic acid depletion during hemodialysis. *JAMA* **220**, 1697-1699.
- SULLIVAN, J.F., EISENSTEIN, A.B., MOTTOLA, O.M. & MITTAL, A.K. (1972) The effect of dialysis on plasma and tissue levels of vitamin C *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs* **18**, 277-282.
- TAKEUCHI, T., JUNG, E.H., NISHINO, K. & ITOKAWA, Y. (1990) The relationship between the thiamin pyrophosphate effect and the saturation status of the transketolase with its coenzyme in human erythrocytes *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **60**(2), 112-120.
- TALLAKSEN, C.M.E., BOEHMER, T. & BELL, H. (1991) Concomitant determination of thiamin and its phosphate esters in human blood and serum by HPLC *J. Chromatogr.* **564**, 127-136.
- TALLAKSEN, C.M.E., BELL, H. & BOHMER, T. (1992a) The concentration of thiamin and thiamin phosphate esters in patients with alcoholic liver cirrhosis *Alcohol. Alcohol.* **27**(5), 523-530.
- TALLAKSEN, C.M.E., BOEHMER, T. & BELL, H. (1992b) Concentrations of the water-soluble vitamins thiamin, ascorbic acid, and folic acid in serum and cerebrospinal fluid of healthy individuals *Am. J. Clin. Nutr.* **56**(3), 559-564.
- TALLAKSEN, C.M.E., BELL, H. & BOHMER, T. (1993a) Thiamin and thiamin phosphate ester deficiency assessed by high performance liquid chromatography in four clinical cases of Wernicke encephalopathy *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **17**(3), 712-716.
- TALLAKSEN, C.M.E., SANDE, A., BOEHMER, T., BELL, H. & KARLSEN, J. (1993b) Kinetics of thiamin and thiamin phosphate esters in human blood, plasma and urine after 50 mg intravenously or orally *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **44**, 73-78.
- TALLAKSEN, C.M.E., BOEHMER, T., KARLSEN, J. & BELL, H. (1997) Determination of thiamin and its phosphate esters in human blood, plasma, and urine *Methods Enzymol.* **279**, 67-74.
- TAMPHAICHITR, V. (1994) Thiamin. In *Modern nutrition in health and disease* (Edited by Shils, M., Olson, J. & Shike, M.), 8th Ed., Lea & Febinger, Philadelphia; Baltimore; Hong Kong; London; Munich; Sydney; Tokyo.
- THOM, J.Y., DAVIS, R.E. & ICKE, G.C. (1985) Dephosphorylation of thiamin pyrophosphate by fresh human plasma *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **55**, 269-273.
- THOM, J.Y., DAVIS, R.E. & ICKE, G.C. (1986) Protein binding of thiamin in human plasma *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **56**, 189.
- TOUCHETTE, M.A. & SLAUGHTER, R.L. (1991) The effect of renal failure on hepatic drug clearance *DICP* **25**, 1214-1224.
- VAN DEN BERG, H. (1997) Principles of vitamin status assessment and the present state of art of the methodology. In *Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. 6. Symposium in Jena/Thüringen* (Edited by Schubert, R., Flachowsky, G., Bitsch, R. & Jahreis, G.), pp. 1-10. Friedrich-Schiller-Universität, Jena.
- VAN ERP-BAART, A.M., SARIS, W.M., BINKHORST, R.A., VOS, J.A. & ELVERS, J.W. (1989) Nationwide survey on nutritional habits in elite athletes. Part II. Mineral and vitamin intake *Int. J. Sports Med.* **10**, S11-S16.
- VO-KHACTU, K.P., CLAYBURGH, R.H. & SANDSTEAD, H.H. (1974) An improved NADH-dependent transketolase assay for assessing thiamine nutriture *J. Lab. Clin. Med.* **83**, 983-989.
- VUILLEUMIER, J.P., KELLER, H.E. & FIDANZA, F. (1991) Erythrocyte transketolase activity. In *Nutritional status assessment: a manual for population studies* (Edited by Fidanza, F.), pp. 228-232. Chapman & Hall, London; New York; Tokyo; Melbourne; Madras.
- WADA, T., TAKAGI, H., MINAKAMI, H., HAMANKA, W., OKAMOTO, K., ITO, A. & SAHASHI, Y. (1961) A new Thiamine derivative, S-Benzoylthiamine O-Monophosphate *Science* **134**, 195-196.
- WARNOCK, L.G., PRUDHOMME, C.R. & WAGNER, C. (1978) The determination of thiamin pyrophosphate in blood and other

- tissues, and its correlation with erythrocyte transketolase activity *J. Nutr.* **108**(3), 421-427.
- WEBER, W. (1991) Nichtlineare Kinetik von Thiamin. In *Pharmakologie und klinische Anwendung hochdosierter B-Vitamine* (Edited by Rietbrock, N.), pp. 11-20. Steinkopff, Darmstadt.
- WEBER, W. & KEWITZ, H. (1985) Determination of thiamine in human plasma and its pharmacokinetics *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **28**, 213-219.
- WEBER, W., NITZ, M. & LOOBY, M. (1990) Nonlinear kinetics of the thiamine cation in humans: saturation of nonrenal clearance and tubular reabsorption *J. Pharmacokin. Biopharm.* **18**, 501-523.
- WILLIAMS, R. R. & CLINE, J. K. (1936) Synthesis of vitamin B1 *J. Am. Chem. Soc.* **58**, 1504.
- WINKLER, G., PÁL, B., NAGYBÉGÁNYI, E., ÖRY, I., POROCHNAVEC, M. & KEMPLER, P. (1999) Effectiveness of different benfotiamine dosage regimens in the treatment of painful diabetic neuropathy *Drug Res.* **49** (I)(3), 220-224.
- WOELK, H., LEHRL, S., BITSCH, R. & KOPCKE, W. (1998) Benfotiamine in the treatment of alcoholic polyneuropathy: an 8-week randomized controlled study (BAP I Study) *Alcohol. Alcohol.* **33**(6), 631-638.
- WOLF, M. (1995) Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Thiaminderivaten unter besonderer Berücksichtigung von S-Benzoylthiamin-O-monophosphat. Dissertation. Friedrich-Schiller-Universität, Jena.
- WOLK, R. (1993) Micronutrition in dialysis *Nutr. Clin. Pract.* **8**(6), 267-276.
- WOOD, B., GIJSBERS, A., GOODE, A., DAVIS, S., MULHOLLAND, J. & BREEN, K. (1980) A study of partial thiamin restriction in human volunteers *Am. J. Clin. Nutr.* **33**, 848-861.
- YAMAZAKI, M. (1968) Mechanism of the intestinal absorption of S-Benzoylthiamine-O-Monophosphate. I. Metabolism in tissue homogenates *Vitamins (Kyoto)* **38**(1), 12-20.
- ZEMPLÉNI, J. & KÜBLER, W. (1995) Metabolism of vitamin B-6 by human kidney *Nutr. Res.* **15**(2), 187-192.
- ZEMPLÉNI, J., GALLOWAY, J.R. & MCCORMICK, D.B. (1996) The metabolism of riboflavin in female patients with liver cirrhosis *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **66**, 237-243.
- ZIEMS, M. (1997) Zur Biokinetik des S-Benzoylthiamin-O-monophosphats bei gesunden Männern - Analyse mit Metaboliten-Modellen. Dissertation. Dr. Fleck, Niederkleen.

ANHANG

Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Blut- und Urinaufbereitung

a) Geräte und Hilfsmittel

- Blutentnahmeröhrchen (10 ml)
- Sarstedt Neutraltubes (Reaktionsgefäß)
- Zentrifuge
- Harnsammelgefäße

b) Chemikalien

- *Isotonische Kochsalzlösung*: 4,25 g NaCl werden im Messkolben mit dest. Wasser auf 500 ml aufgefüllt

c) Durchführung der Blutaufbereitung

- Das Blut wird direkt in eine mit Heparin beschichtete Monovette entnommen und sorgfältig gemischt. Etwa 3 ml Vollblut werden in ein Reaktionsgefäß pipettiert und sofort bei -30°C eingefroren. Anschließend wird 10 min mit 3500 min^{-1} zentrifugiert und der Überstand (Plasma) vollständig in Reaktionsgefäße pipettiert. Das Plasma wird ebenfalls bei -30° bis zur Analyse eingefroren.
- Die verbleibenden korpuskulären Anteile werden mit isotonischer Kochsalzlösung auf 10 ml aufgefüllt, vorsichtig gemischt und zentrifugiert (10 min, 3500 min^{-1} , 4°C). Der Überstand wird mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Anschließend wird wieder mit isotonischer Kochsalzlösung auf 10 ml aufgefüllt, gemischt, zentrifugiert und abgesaugt. Dieser Vorgang wird ein drittes Mal wiederholt, wobei diesmal 15 min zentrifugiert wird (Absaugen z.T. an der Zentrifugierhilfe vorbei mit einigen Erythrozyten). Danach werden 1 ml der gepackten Erythrozyten mit 0,8 ml isotonischer Kochsalzlösung resuspendiert und bei -80°C in Reaktionsgefäßen eingefroren.

d) Durchführung der Urinaufbereitung

- Für jedes Sammelintervall wird ein Sammelgefäß mit Patienteninitialen und Uhrzeit beschriftet. Das gefüllte Sammelgefäß wird gewogen. Der Inhalt wird gut gemischt und anschließend wird zweimal ein Aliquot (5 ml) 1:1 mit 0,1 N HCl verdünnt und bei -30°C bis zur Analyse eingefroren. Die Urinmenge pro Sammelintervall ergibt sich aus dem gewogenen Gefäß abzüglich seines Leergewichts.

Arbeitsvorschrift zur Bestimmung der Transketolaseaktivität

a) Geräte und Hilfsmittel

- Eppendorf-Reaktionsgefäße
- Kunststoffküvetten
- Badthermostat
- Photometer mit temperierbarem Küvettenhalter

b) Chemikalien

- *0,1 M Tris-Puffer (2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol), pH 7,6:* 0,606 g 2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol werden in 30 ml dest. Wasser gelöst, der pH-Wert wird mit Salzsäure (1 n) auf pH 7,6 eingestellt. Diese Lösung wird im Messkolben auf 50 ml aufgefüllt (bei 4°C ca. 14 Tage haltbar)
- *0,1 M Ribose-5-phosphat:* 13,7 mg Ribose-5-phosphat werden in 0,5 ml Tris-Puffer gelöst (täglich frisch ansetzen)
- *1 mM TDP:* 4,6 mg TDP werden in 10 ml Tris-Puffer gelöst (täglich frisch ansetzen)
- *2,5 mM NADH:* 1,8 mg NADH werden in 1 ml Tris-Puffer gelöst (täglich frisch ansetzen)

Die Reagenzien sind, mit Ausnahme des Tris-Puffers und der TDP-Lösung, ausreichend für zwei Probenansätze (4 Küvetten).

- *Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase/Triosephosphat-Isomerase (GDH/TIM),* gebrauchsfertig (Boehringer)
- *Isotonische Kochsalzlösung (0,85 g/100 ml):* 4,25 g NaCl werden im Messkolben mit dest. Wasser auf 500 ml aufgefüllt
- *Saponin-Lösung:* 30 mg Saponin/10 ml isotonische Kochsalzlösung, 14 Tage haltbar

c) Durchführung

- *Probenaufbereitung:* Die Analysenprobe (verdünnte Erythrozyten) wird nach dem Auftauen am Analysentag mit 50 µl Saponin-Lösung versetzt. Die Probe danach gut schütteln und 20 min im Dunkeln hämolysieren lassen.
- *Probenansatz:*

Testansatz in der Küvette	ohne TDP-Zusatz	mit TDP-Zusatz
Tris-Puffer (ml)	2,4	2,4
Hämolysat (ml)	0,05	0,05
Ribose-5-phosphat (ml)	0,1	0,1
NADH (ml)	0,1	0,1
TDP (ml)	-	0,1
Dest. Wasser (ml)	0,15	0,05

Dieser Ansatz wird 15 min bei 37°C inkubiert, danach erfolgt die Zugabe von 0,01 ml GDH/TIM. Die Messung (Messtemperatur 37°C) erfolgt spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 334 nm nach 2 min Vorreaktion. Die Reaktion wird während ihres linearen Teils (t = 7 min) aufgezeichnet, d.h. alle 60 s wird die Extinktion ermittelt (insgesamt 8 Messwerte für jede Küvette). Die Messung wird als Doppelbestimmung durchgeführt.

d) Auswertung

Die Volumenaktivität U ergibt sich aus Gl. (8.1).

$$U = \frac{dC}{dt} \quad (8.1)$$

wobei nach dem LAMBERT-BEER-Gesetz die Beziehung (8.2) gilt.

$$C = \frac{E}{\epsilon \cdot d} \quad (8.2)$$

Somit ist

$$U = \frac{dE}{dt \cdot \epsilon \cdot d} \quad (8.3)$$

Bezogen auf das Volumen des Testansatzes gilt:

$$U = \frac{dE}{dt \cdot \epsilon \cdot d} \cdot \frac{V_T}{V_H} \cdot 1000 \quad (8.4)$$

dE: Extinktionsdifferenz, dt: Zeitdifferenz, d: Schichtdicke (hier 1 cm), ε: Extinktionskoeffizient von NADH bei 334 nm (6,18 cm²·μmol⁻¹), V_T: Volumen des Testansatzes (hier 2,81 ml), V_H: Volumen der eingesetzten Erythrozyten (Hk = 1,0)

$$U = \frac{dE}{dt} \cdot 9094 \text{ [}\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}\text{]} \quad (8.5)$$

Der Aktivierungskoeffizient ergibt sich aus Gl. (8.6).

$$\alpha_{ETK} = \frac{U / l_{mit\ TDP}}{U / l_{ohne\ TDP}} \quad (8.6)$$

Als ein zum Aktivierungskoeffizienten äquivalentes Maß kann der TPP-Effekt = (1 - [1/α_{ETK}]) × 100% verwendet werden.

Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

	<i>Seite</i>
Tabelle 8-1	Verzeichnis der verwendeten Chemikalien, sonstigen Materialien und Geräte (Kap. 2, Abschnitte 4 und 6) 153
Tabelle 8-2	Verzeichnis der verwendeten Chemikalien, sonstigen Materialien und Geräte (Kap. 2, Abschnitt 5)..... 154
Tabelle 8-3	Basisdaten der Patienten (I), Kap. 2, Abschnitt 4..... 156
Tabelle 8-4	Basisdaten der Patienten (II), Kap. 2, Abschnitt 4..... 157
Tabelle 8-5	Basiswerte im Vollblut und Plasma (ng/ml), Kap. 2, Abschnitt 4 158
Tabelle 8-6	Basiswerte: TDP in Erythrozyten (ng/ml), Thiamin ^Σ im Urin (µg/24 h), durchschnittliche tägliche Thiaminzufuhr (mg) und ETKA/α-ETK, Kap. 2, Abschnitt 4..... 158
Tabelle 8-7	Thiamin (ng/ml), Matrix: Vollblut, Kap. 2, Abschnitt 4..... 159
Tabelle 8-8	TMP (ng/ml), Matrix: Vollblut, Kap. 2, Abschnitt 4..... 159
Tabelle 8-9	TDP (ng/ml), Matrix: Vollblut, Kap. 2, Abschnitt 4 160
Tabelle 8-10	Thiamin ^Σ (ng/ml), Matrix: Vollblut, Kap. 2, Abschnitt 4..... 160
Tabelle 8-11	TDP (ng/ml), Matrix: Erythrozyten, Kap. 2, Abschnitt 4..... 161
Tabelle 8-12	Thiamin (ng/ml), Matrix: Plasma, Kap. 2, Abschnitt 4..... 161
Tabelle 8-13	Thiamin ^Σ (ng/ml), Matrix: Plasma, Kap. 2, Abschnitt 4..... 162
Tabelle 8-14	Thiamin, TMP und Thiamin ^Σ im 24-h-Urin (µg), Kap. 2, Abschnitt 4..... 162
Tabelle 8-15	Thiamin ^Σ -Konzentration (µg/ml) und Thiamin ^Σ -Summenkurve im 24-h-Urin (µg), Kap. 2, Abschnitt 4 163
Tabelle 8-16	Basisdaten der Patienten (I), Nr. 5-31 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, Nr. 6-50 Transplantatempfänger, Kap. 2, Abschnitt 5..... 163
Tabelle 8-17	Basisdaten der Patienten (II), Nr. 5-31 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, Nr. 6-50 Transplantatempfänger, Kap. 2, Abschnitt 5..... 164
Tabelle 8-18	Basisdaten der Patienten (III), Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5..... 165
Tabelle 8-19	Basisdaten der Patienten (IV), Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5..... 165
Tabelle 8-20	Basisdaten der Patienten (V), Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5..... 166
Tabelle 8-21	Indikatoren des Thiaminstatus, Basalwerte, Nr. 5-31 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, Nr. 6-50 Transplantatempfänger, Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5 167
Tabelle 8-22	Indikatoren des Thiaminstatus, Supplementierungsphase, Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5 168
Tabelle 8-23	Indikatoren des Thiaminstatus, Auslassphase, Dialysepatienten 168
Tabelle 8-24	Prüfmedikation (Kap. 2, Abschnitt 5) 169
Abb. 8-1	Chromatogramm einer Standardlösung (150 nM)..... 170
Abb. 8-2	Chromatogramm einer Plasmaprobe..... 170
Abb. 8-3	Chromatogramm einer Vollblut-Probe 170
Abb. 8-4	Chromatogramm einer Urin-Probe..... 171
Abb. 8-5	Chromatogramm einer Liquorprobe 171

Tabelle 8-1 Verzeichnis der verwendeten Chemikalien, sonstigen Materialien und Geräte (Kap. 2, Abschnitte 4 und 6)

Substanz/Gerät/Software	Bezugsquelle/Hersteller
pH-Meter Typ pH 537	WTW, Weilheim
Metallblock-Thermostat Typ 2103 DA, Serien-Nr. 11019	Liebisch
Analysenwaage Typ RC 210 P	Sartorius, Göttingen
Hettich Kühl-Zentrifuge Universal 30 RF, Werk-Nr. 3323-02	W. Krannich, Göttingen
Transferpetten [®]	Brand, Wertheim
Monovetten [®] mit Ammoniumheparinat 10 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Reagenzglasschüttler RS 1	W. Krannich, Göttingen
Photometer Typ S 750, Serien-Nr. 1052	Secomam, Domont-Cédex
Haake Badthermostat Modell C1-W5P	W. Krannich, Göttingen
Sonorex Ultraschallbad Typ RK 100, Geräte-Nr. 301195050	Bandelin, Berlin
Plastibrand [®] Einmal-Makroküvetten (2,5 ml), Schichtdicke 1 cm	Brand, Wertheim
Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase/Triosephosphat-Isomerase, gebrauchsfertig	Boehringer, Mannheim
Nicotinamid-adenin-dinukleotidphosphat (Dinatriumsalz)	Boehringer, Mannheim
Saponin	Roth, Karlsruhe
2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol, Tris	Boehringer, Mannheim
Ribose-5-phosphat	Boehringer, Mannheim
Coccarboxylase (Thiaminpyrophosphatchlorid)	Sigma, St. Louis
Thiaminmonophosphatchlorid-Dihydrat	Fluka, Buchs
Thiaminchloridhydrochlorid	Merck, Darmstadt
Thiamintriphosphat	Wako, Japan
Vorsäule: K1 (10 × 4,0 mm), Säulenmaterial: PRONTOSIL 120-3-C18 AQ (3 µm)	Bischoff, Leonberg
Analytische Säule: SC-04-100 (100 × 4,0 mm), Säulenmaterial: PRONTOSIL 120-3-C18 AQ (3 µm)	Bischoff, Leonberg
HPLC-Pumpe L-6200A, Serien-Nr. 0758-016	Merck-Hitachi, Darmstadt
Fluoreszenzdetektor F-1080, Serien-Nr. 0502-092	Merck-Hitachi, Darmstadt
Autosampler AS-2000A, Serien-Nr. 0324-015	Merck-Hitachi, Darmstadt
Interface Modul D-6000, Serien-Nr. 0441-065	Merck-Hitachi, Darmstadt

(Fortsetzung Tabelle 8-1)

Chromatography Data Station Software D-7000 HPLC-System-Manager V.3.1.1 für Windows™ NT, Copyright© Hitachi, Ltd. 1994-1999	Hitachi-Instruments, Inc., San Jose
Methanol CHROMASOLV® HPLC-Grade (99,9%)	Riedel-de Haën
Kaliumhexacyanoferrat (III)	Merck, Darmstadt
di-Kaliumhydrogenphosphat	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid Plätzchen	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid	Fluka, Buchs
Perchlorsäure 70%	Laborchemie, Apolda
o-Phosphorsäure 85%	Merck, Darmstadt
S&S Membranfilter-Set Typ GV 05010	Schleicher & Schüll, Dassel
Membranfilter RC 55 (0,45 µm)	Schleicher & Schüll, Dassel

Tabelle 8-2 Verzeichnis der verwendeten Chemikalien, sonstigen Materialien und Geräte (Kap. 2, Abschnitt 5)

Substanz/Gerät	Bezugsquelle/Hersteller
pH-Meter Typ pH 537	WTW, Weilheim
Metallblock-Thermostat Typ 2103 DA, Serien-Nr. 11019	Liebisch
Analysenwaage Typ RC 210 P	Sartorius, Göttingen
Hettrich Kühl-Zentrifuge Universal 30 RF, Werk-Nr. 3323-02	W. Krannich, Göttingen
Reagenzglasschüttler RS 1	W. Krannich, Göttingen
Transferpetten®	Brand, Wertheim
Monovetten® mit Ammoniumheparinat 10 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Photometer Typ S 750, Serien-Nr. 1052	Secomam, Domont-Cédex
Haake Badthermostat Modell C1-W5P	W. Krannich, Göttingen
Sonorex Ultraschallbad Typ RK 100, Geräte-Nr. 301195050	Bandelin, Berlin
Plastibrand® Einmal-Makroküvetten (2,5 ml), Schichtdicke 1cm	Brand, Wertheim
Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase/Triosephosphat-Isomerase, gebrauchsfertig	Boehringer, Mannheim
Nicotinamid-adenin-dinukleotidphosphat (Dinatriumsalz)	Boehringer, Mannheim
Saponin	Roth, Karlsruhe
2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol, Tris	Boehringer, Mannheim
Ribose-5-phosphat	Boehringer, Mannheim
Coccarboxylase (Thiaminpyrophosphatchlorid)	Sigma, St. Louis

(Fortsetzung Tabelle 8-2)

Thiaminchloridhydrochlorid	Merck, Darmstadt
Clara-Diastase	Fluka, Buchs
HPLC-Pumpe L-6200A, Serien-Nr. 0537-036	Merck-Hitachi, Darmstadt
Fluoreszenzdetektor F-1080, Serien-Nr. 0502-085	Merck-Hitachi, Darmstadt
Autosampler AS-2000A, Serien-Nr. 0549-008	Merck-Hitachi, Darmstadt
Badthermostat Thermomix ME	Braun Melsungen, Melsungen
Reaktionspumpe Typ E 100-51010	W. Krannich, Göttingen
Reaktionscoil	W. Krannich, Göttingen
Chromatopac C-R6A Integrator, Serien-Nr. 13415	Shimadzu Europa, Duisburg
Analytische Säule: Eurospher 100-C18 (250 × 4,0 mm; 7 µm)	Knauer, Berlin
Vorsäule: Eurospher 100-C18 (5 × 4,0 mm; 7 µm)	Knauer, Berlin
Natriumdihydrogenphosphat-1-hydrat	Merck, Darmstadt
Natriumperchlorat-Monohydrat	Merck, Darmstadt
Natriumacetat-Trihydrat	Merck, Darmstadt
Methanol CHROMASOLV [®] HPLC-Grade (99,9%)	Riedel-de Haën
Kaliumhexacyanoferrat (III)	Merck, Darmstadt
di-Kaliumhydrogenphosphat	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid Plätzchen	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid	Fluka, Buchs
Perchlorsäure 70%	Laborchemie, Apolda
Schwefelsäure 95%	Merck, Darmstadt
Salzsäure 37%	Merck, Darmstadt

Tabelle 8-3 Basisdaten der Patienten (I), Kap. 2, Abschnitt 4

Pat. Nr.	Geschl.	Körperhöhe (m)	Gewicht (kg)	Körperoberfläche (m ²)	BMI (kg/m ²)	Alter (Jahre)	Dauer der ESRD (Mo.)	Dauer der Dialysezeit	Serum-Harnstoff (mmol/l)	Serum-Kreatinin (μmol/l)
1	M	1,74	69,5	1,83	23,0	48	39,0	39,0	32,0	1116,6
2	M	1,69	74,5	1,85	26,1	55	35,0	19,0	28,0	760,2
3	M	1,76	68,0	1,83	22,0	56	126,0	124,0	26,0	945,9
4	M	1,78	80,5	1,99	25,4	58	73,0	32,0	32,0	778,0
5	M	1,70	67,0	1,78	23,2	57	93,0	69,0	17,9	683,0
6	W	1,56	56,0	1,55	23,0	54	48,0	46,0	29,0	831,0
7	W	1,68	73,0	1,83	25,9	57	14,0	12,0	23,0	459,7
8	M	1,80	90,5	2,10	27,9	58	10,0	8,0	21,0	1025,4
9	M	1,69	75,0	1,86	26,3	42	12,0	12,0	34,0	892,8
10	M	1,64	62,0	1,67	23,1	60	62,0	61,0	39,5	983,0
11	M	1,78	81,5	2,00	25,7	63	36,0	25,0	29,0	877,0
12	M	1,75	80,0	1,96	26,1	64	28,0	26,0	18,5	749,0
13	W	1,60	66,0	1,69	25,8	56	10,0	8,0	38,6	919,3
14	M	1,70	85,0	1,97	29,4	63	36,0	26,0	28,0	1047,0
15	M	1,83	93,5	2,16	27,9	64	21,0	20,0	25,0	970,6
16	M	1,65	68,0	1,75	25,0	39	23,0	23,0	28,0	987,0
17	M	1,68	69,5	1,79	25,5	64	6,0	6,0	28,3	918,8
18	M	1,77	84,5	2,02	27,0	43	21,0	17,0	32,0	919,4
19	M	1,78	96,0	2,14	30,3	38	29,0	7,0	24,14	934,0
20	M	1,77	80,0	1,97	25,5	56	57,0	54,0	33,3	720,0

Tabelle 8-4 Basisdaten der Patienten (II), Kap. 2, Abschnitt 4

Pat. Nr.	Serum-Protein (g/l)	Serum-Albumin (g/l)	Proteinausscheidung	Hk (%)	Hb (mmol/l)	RR syst. (mm Hg)	RR diast. (mm Hg)	Harnvolumen (ml/24)	Dialysator
1	80,0	51,84	0,91	35	7,90	97	78	150,0	High-Flux (Polysulfon, Polyamid)
2	65,0	41,80	0,08	28	5,90	131	84	1400,0	Gambrene® (Polycarbonat-Polyethylether-Copolymer)
3	74,0	45,29	0,00	27	6,00	108	64	0,0	High-Flux (Polysulfon, Polyamid)
4	74,0	43,44	0,00	32	7,10	153	77	1750,0	Gambrene® (Polycarbonat-Polyethylether-Copolymer)
5	74,5	31,07	0,00	39	8,10	170	90	0,0	High-Flux (Polysulfon, Polyamid)
6	81,0	45,44	0,00	31	6,80	145	80	0,0	High-Flux (Polysulfon, Polyamid)
7	76,0	42,48	1,80	28	6,00	130	95	339,0	Gambrene® (Polycarbonat-Polyethylether-Copolymer)
8	64,0	36,74	1,50	28	6,10	168	99	0,0	Gambrene® (Polycarbonat-Polyethylether-Copolymer)
9	76,0	49,48	0,00	27	6,00	154	88	0,0	Gambrene® (Polycarbonat-Polyethylether-Copolymer)
10	67,2	39,65	0,01	30	6,60	122	49	154,5	High-Flux (Polysulfon, Polyamid)
11	64,0	41,02	0,00	34	7,20	111	69	0,0	High-Flux (Polysulfon, Polyamid)
12	67,0	40,80	0,00	42	8,80	105	53	0,0	Gambrene® (Polycarbonat-Polyethylether-Copolymer)
13	66,0	41,91	1,44	36	7,63	138	84	579,0	High-Flux (Polysulfon, Polyamid)
14	73,1	43,13	0,00	31	6,83	191	93	600,0	Cuprophan
15	67,9	43,46	0,76	31	6,60	122	75	10,5	Cuprophan
16	72,0	48,24	1,57	29	6,20	139	85	590,0	Gambrene® (Polycarbonat-Polyethylether-Copolymer)
17	65,6	40,02	1,49	37	7,70	180	95	288,0	Cuprophan
18	61,2	38,56	2,60	29	6,10	156	87	1824,0	Cuprophan
19	69,2	44,29	0,66	33	6,95	107	53	989,5	Cuprophan
20	76,9	45,37	0,19	33	6,90	127	75	199,6	Cuprophan

Tabelle 8-5 Basiswerte im Vollblut und Plasma (ng/ml), Kap. 2, Abschnitt 4

Pat. Nr.	Thiamin (Blut)	TMP (Blut)	TDP (Blut)	Thiamin ^Σ (Blut)	Thiamin (Plasma)	Thiamin ^Σ (Plasma)
1	3,31	2,93	53,86	42,60	6,86	11,16
2	8,79	2,81	32,19	33,25	21,33	23,20
3	1,55	1,57	32,77	25,25	5,54	9,84
4	4,54	3,66	57,90	47,24	13,96	16,28
5	9,40	2,98	66,03	56,99	15,37	18,96
6	3,74	3,10	56,07	44,68	10,28	13,85
7	2,71	1,45	34,44	27,43	9,81	12,66
8	3,43	4,61	65,28	52,03	7,33	8,15
9	8,56	4,67	56,33	51,14	19,80	20,85
10	5,74	0,75	46,18	37,78	12,70	15,43
11	2,05	1,38	38,26	29,30	5,98	8,11
12	1,77	1,61	50,17	37,32	5,51	7,99
13	3,29	2,11	77,16	57,62	8,75	10,69
14	7,76	1,90	51,88	44,75	13,38	17,13
15	9,03	2,01	73,02	60,46	15,71	17,95
16	3,42	3,25	40,96	34,24	4,33	9,26
17	6,03	1,75	58,42	47,31	13,63	14,09
18	4,63	1,83	42,78	35,36	8,81	9,99
19	4,77	2,32	44,43	37,09	12,09	13,26
20	13,66	2,89	76,27	68,12	20,71	25,35

Tabelle 8-6 Basiswerte: TDP in Erythrozyten (ng/ml), Thiamin^Σ im Urin (μg/24 h), durchschnittliche tägliche Thiaminzufuhr (mg) und ETKA/α-ETK, Kap. 2, Abschnitt 4

Pat. Nr.	TDP (Erythrozyten)	Thiamin ^Σ (Urin)	Thiaminzufuhr (7d-)	ETKA _{0h} (μkat/l)	α-ETK _{0h}	ETKA _{10h} (μkat/l)	α-ETK _{10h}
1	150,30	364,5	1,50	4,39	1,09	4,74	1,07
2	114,96	225,9	1,80	3,94	1,09	5,07	1,04
3	107,68	0,0	1,40	3,94	1,17	3,96	1,20
4	174,62	1808,1	1,50	3,75	1,10	4,42	1,07
5	163,28	0,0	0,60	5,46	1,01	4,81	1,02
6	180,88	0,0	1,10	4,81	1,06	4,81	0,98
7	114,60	1058,4	1,10	3,64	1,08	3,82	1,02
8	233,14	0,0	1,80	4,09	1,10	4,09	1,08
9	208,64	0,0	1,70	4,16	1,16	4,61	1,03
10	153,94	363,3	1,20	2,92	1,05	3,44	1,09
11	112,54	0,0	1,20	2,92	1,16	3,44	1,02
12	119,44	0,0	1,00	2,86	1,14	3,31	1,00
13	214,33	50,5	0,80	2,99	1,07	3,05	1,09
14	165,28	814,3	1,30	3,44	1,00	3,18	1,00
15	235,54	3,2	1,60	2,99	1,13	3,25	1,08
16	136,98	163,9	1,40	3,77	1,14	4,22	1,06
17	157,91	145,7	2,30	2,86	1,27	3,70	1,02
18	147,52	961,8	1,90	2,92	1,13	3,05	1,07
19	134,65	188,7	1,30	2,86	1,15	3,70	1,18
20	222,60	93,6	-	3,85	1,09	3,90	1,07

Tabelle 8-7 Thiamin (ng/ml), Matrix: Vollblut, Kap. 2, Abschnitt 4

Pat.	0h	0,5h	0,75h	1h	1,5h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h
1	3,31	11,67	29,73	83,39	111,32	107,17	88,46	115,80	118,15	51,51	35,75	28,94
2	8,79	12,91	23,66	22,02	31,64	27,69	25,88	22,29	23,38	13,96	15,69	14,00
3	1,55	6,18	13,81	13,19	11,41	11,02	9,22	9,10	7,96	7,02	7,02	6,25
4	4,54	6,70	21,25	63,56	101,49	100,40	81,80	83,46	70,50	66,58	54,99	23,71
5	9,40	13,33	13,96	15,14	16,14	25,10	18,45	16,37	18,16	14,23	14,11	6,60
6	3,74	63,13	185,44	212,74	197,59	182,44	142,54	123,68	103,60	79,39	69,43	31,61
7	2,71	8,34	61,46	117,04	121,90	120,54	124,36	107,68	79,82	68,34	58,00	23,36
8	3,43	11,81	11,57	9,67	13,19	11,23	12,61	11,07	11,43	11,91	12,00	6,06
9	8,56	18,47	19,32	21,26	23,28	18,94	17,10	14,70	14,83	13,76	12,96	13,77
10	5,74	42,96	141,52	176,42	174,44	159,27	160,51	149,96	141,43	117,25	95,88	36,64
11	2,05	2,98	3,20	3,35	4,37	4,44	4,76	5,01	5,32	5,05	4,88	3,20
12	1,77	150,55	150,40	134,71	130,20	124,95	100,87	84,70	63,56	46,64	37,44	10,70
13	3,29	11,82	14,25	15,62	14,76	15,00	15,19	15,19	11,01	8,90	8,90	5,60
14	7,76	13,21	37,13	64,15	82,22	81,23	89,80	96,25	81,66	68,11	59,22	33,97
15	9,03	13,73	15,60	16,37	16,37	17,25	17,04	18,27	17,21	14,92	14,28	13,72
16	3,42	9,84	10,51	15,12	18,98	25,96	28,20	26,33	18,58	17,37	14,33	10,28
17	6,03	55,67	110,77	108,20	93,38	78,46	68,32	54,79	44,83	34,71	31,17	16,26
18	4,63	64,70	53,75	48,28	42,05	40,53	58,19	59,72	40,01	27,80	19,43	9,78
19	4,77	9,38	19,69	18,20	17,39	18,31	20,72	20,60	16,86	15,41	12,84	10,39
20	13,66	58,09	64,40	101,65	97,90	84,48	70,13	65,97	58,91	51,81	51,64	37,11

Tabelle 8-8 TMP (ng/ml), Matrix: Vollblut, Kap. 2, Abschnitt 4

Pat.	0h	0,5h	0,75h	1h	1,5h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h
1	2,93	6,92	8,57	8,65	12,01	7,12	8,52	13,19	12,21	9,27	7,82	10,39
2	2,81	4,48	6,30	7,33	6,90	7,18	6,30	10,07	8,46	4,98	4,48	4,48
3	1,57	2,20	4,40	4,65	3,86	3,92	4,26	3,96	3,42	3,79	2,12	2,49
4	3,66	4,24	5,01	4,96	4,81	5,11	8,22	11,09	10,77	20,88	15,63	9,38
5	2,98	3,51	4,69	6,97	3,56	4,67	5,27	3,96	3,51	3,66	3,55	2,86
6	3,10	4,50	9,78	10,31	5,79	5,76	7,39	6,50	12,79	13,73	12,38	7,24
7	1,45	5,79	6,00	6,91	7,60	7,33	8,46	7,16	8,83	7,33	5,99	4,09
8	4,61	5,00	7,02	7,55	8,19	7,12	7,67	7,32	8,16	7,85	7,87	6,44
9	4,67	6,69	7,05	8,05	8,99	7,71	6,93	5,94	6,26	5,94	6,30	6,24
10	0,75	2,20	3,14	6,75	8,42	8,53	10,52	11,92	13,19	10,73	12,12	9,92
11	1,38	2,09	2,12	2,02	1,78	1,86	2,20	2,33	2,01	1,92	1,98	1,92
12	1,61	3,76	5,13	7,27	9,70	11,51	8,80	7,67	7,56	11,47	3,21	4,18
13	2,11	3,58	4,22	5,76	6,54	5,88	6,88	6,19	4,47	3,65	3,47	2,98
14	1,90	2,45	3,09	3,84	4,44	4,25	5,45	6,08	6,38	6,19	5,63	5,49
15	2,01	2,97	2,81	3,60	5,60	5,41	4,66	4,79	3,78	3,95	3,45	4,27
16	3,25	4,57	5,05	5,01	5,56	6,46	6,22	6,06	6,47	6,25	4,78	2,93
17	1,75	2,91	4,08	5,37	6,49	6,70	7,41	7,87	6,45	6,43	6,23	3,81
18	1,83	5,45	6,60	8,20	8,46	7,97	9,60	9,31	10,29	7,11	5,84	3,14
19	2,32	2,49	3,27	3,09	3,34	3,21	3,66	2,94	3,16	3,37	3,14	3,59
20	2,89	4,47	5,07	6,11	5,37	5,93	6,42	5,66	6,27	7,31	7,06	7,44

Tabelle 8-9 TDP (ng/ml), Matrix: Vollblut, Kap. 2, Abschnitt 4

Pat.	0h	0,5h	0,75h	1h	1,5h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h
1	53,86	57,65	70,94	90,07	100,37	114,19	115,31	81,56	69,52	144,65	122,07	114,65
2	32,19	38,70	34,49	29,84	28,21	35,54	33,93	31,76	33,41	49,28	47,22	45,51
3	32,77	31,14	43,80	46,56	44,16	46,92	49,09	52,08	46,45	48,75	52,38	39,01
4	57,90	67,04	87,65	93,96	126,79	141,98	155,54	139,29	155,84	157,61	156,56	138,06
5	66,03	68,28	70,03	68,97	76,43	72,75	81,49	82,45	81,05	87,94	91,74	88,43
6	56,07	70,76	71,13	80,73	82,33	87,31	105,96	127,26	81,98	83,28	88,38	74,17
7	34,44	47,03	51,95	57,72	63,58	70,15	86,52	89,05	93,60	104,06	100,20	86,90
8	65,28	68,41	69,26	68,83	71,72	71,47	72,14	70,18	77,43	73,30	82,08	71,45
9	56,33	68,69	73,58	69,51	63,65	72,55	75,56	78,39	76,91	75,31	76,80	74,23
10	46,18	58,63	70,54	81,41	93,76	116,77	117,42	128,35	127,63	131,38	141,04	115,71
11	38,26	42,13	43,03	43,56	44,98	47,69	49,86	49,85	41,31	46,78	46,70	45,72
12	50,17	78,67	89,67	97,22	111,34	130,23	143,16	157,42	159,66	175,35	162,38	127,33
13	77,16	77,93	74,24	72,42	79,26	74,77	84,10	84,16	83,96	91,14	91,16	86,00
14	51,88	55,93	67,38	71,06	80,58	87,96	93,07	100,19	99,97	108,08	108,74	95,79
15	73,02	66,17	66,32	67,73	70,70	71,61	83,63	75,49	74,45	78,74	84,77	70,10
16	40,96	51,71	58,33	57,74	58,69	60,54	64,33	66,42	67,67	71,58	76,84	57,46
17	58,42	93,04	112,83	111,00	115,79	118,11	132,77	127,02	139,60	123,96	138,10	113,78
18	42,78	54,23	58,90	71,85	72,19	95,29	98,10	122,00	118,28	111,04	118,71	87,24
19	44,43	49,05	48,80	47,07	51,27	53,35	53,61	58,50	55,02	65,60	57,53	49,18
20	76,27	82,13	89,27	99,55	102,07	108,67	118,81	120,97	112,21	123,61	126,84	119,02

Tabelle 8-10 Thiamin^Σ (ng/ml), Matrix: Vollblut, Kap. 2, Abschnitt 4

Pat.	0h	0,5h	0,75h	1h	1,5h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h
1	42,60	57,24	85,86	152,58	190,63	191,31	174,65	183,44	176,70	158,31	125,88	116,43
2	33,25	43,35	52,93	49,10	57,21	58,50	54,78	53,22	53,94	52,05	51,90	49,06
3	25,25	29,37	47,64	49,12	44,98	46,51	46,50	48,13	42,68	43,64	44,54	35,05
4	47,24	56,15	85,40	131,95	192,03	201,52	195,02	188,33	186,31	192,99	175,79	126,14
5	56,99	62,93	65,86	68,44	71,33	78,83	78,66	76,01	76,43	77,32	79,68	69,28
6	44,68	115,34	242,83	277,13	258,86	247,07	221,33	216,10	171,15	148,70	140,94	88,69
7	27,43	45,65	102,31	162,64	172,13	174,98	190,96	174,79	151,57	145,79	131,58	86,15
8	52,03	62,90	65,12	63,42	69,50	66,36	68,72	65,51	71,58	68,97	75,04	60,56
9	51,14	71,31	75,83	75,93	74,86	75,36	74,83	73,43	72,86	70,40	70,95	69,97
10	37,78	84,80	192,32	237,96	245,92	246,47	250,00	248,17	240,33	216,41	202,89	124,41
11	29,30	33,52	34,38	34,79	36,55	38,54	40,65	41,02	35,23	38,59	38,42	36,02
12	37,32	207,44	216,04	207,47	214,80	224,06	206,23	198,67	178,96	176,32	150,64	101,01
13	57,62	68,04	68,56	70,13	74,65	71,22	78,68	78,08	72,16	74,16	74,00	66,75
14	44,75	53,44	85,73	115,95	141,03	144,88	158,04	169,91	155,46	147,23	138,26	104,09
15	60,46	61,41	63,22	65,69	69,57	70,89	78,15	73,97	71,26	72,04	75,03	65,28
16	34,24	49,19	54,81	58,97	63,99	73,07	77,66	77,05	70,54	71,77	70,93	52,01
17	47,31	121,53	191,15	188,53	178,01	164,86	165,34	148,33	145,58	124,83	130,69	97,03
18	35,36	106,58	99,87	104,68	98,93	112,63	133,71	151,19	129,86	109,78	105,44	71,92
19	37,09	44,99	55,86	53,02	55,29	57,51	60,51	63,04	57,15	63,08	54,81	47,11
20	68,12	118,00	129,71	174,90	172,17	163,76	156,73	153,33	140,91	142,51	144,29	124,81

Tabelle 8-11 TDP (ng/ml), Matrix: Erythrozyten, Kap. 2, Abschnitt 4

Pat.	0h	0,5h	0,75h	1h	1,5h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h
1	150,30	164,71	202,67	257,35	286,77	326,26	329,45	233,03	198,64	413,27	348,77	327,56
2	114,96	133,20	116,40	97,48	97,50	126,93	121,19	113,44	119,32	176,01	168,64	162,53
3	107,68	115,34	162,23	172,44	163,57	173,77	181,80	192,88	172,05	180,57	194,00	144,49
4	174,62	204,91	268,09	284,59	389,65	437,12	482,10	429,72	478,22	485,04	477,61	424,26
5	163,28	174,18	178,65	175,95	194,98	185,59	207,87	210,32	206,75	224,33	234,04	225,57
6	180,88	228,26	229,46	260,43	265,59	281,65	341,80	410,53	264,45	268,64	285,10	239,26
7	114,60	159,38	185,54	206,13	226,04	246,56	309,01	318,02	334,29	371,64	357,87	310,36
8	233,14	244,33	247,37	245,82	256,15	255,23	257,65	250,65	276,54	261,79	293,14	255,18
9	208,64	254,40	271,29	252,83	228,53	263,44	276,68	290,32	284,84	278,94	284,43	274,94
10	153,94	195,45	235,12	271,38	312,55	389,22	391,40	427,82	425,43	437,93	470,12	385,70
11	112,54	123,92	126,57	128,11	132,30	140,28	146,66	146,62	121,51	137,60	137,37	134,48
12	119,44	187,30	213,51	231,47	265,10	310,06	340,86	374,81	380,14	417,50	386,61	303,16
13	214,33	216,46	206,22	201,17	220,16	207,69	233,62	233,79	233,22	253,17	253,21	238,89
14	165,27	177,08	214,34	229,22	259,92	283,73	300,23	323,18	322,47	348,64	350,76	308,99
15	235,54	213,47	213,94	218,49	228,08	231,00	269,78	243,52	240,16	254,00	273,45	226,13
16	136,97	176,24	195,96	192,07	192,66	202,36	215,62	221,51	225,86	239,28	258,28	193,95
17	157,90	251,46	304,95	300,01	312,95	319,22	358,84	343,30	377,31	335,01	373,23	307,52
18	147,52	187,00	203,11	247,75	248,94	328,59	338,29	420,68	407,87	382,91	409,34	300,84
19	134,65	148,64	147,89	142,64	155,37	161,66	162,46	177,27	166,74	198,79	174,35	149,02
20	222,60	239,08	261,67	289,43	299,05	318,40	350,37	356,38	323,77	359,93	371,13	350,21

Tabelle 8-12 Thiamin (ng/ml), Matrix: Plasma, Kap. 2, Abschnitt 4

Pat.	0h	0,5h	0,75h	1h	1,5h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h
1	6,86	11,96	45,97	113,62	143,24	146,95	135,84	98,54	73,99	59,07	50,37	26,62
2	21,33	35,79	51,86	46,32	43,66	46,03	44,48	35,39	29,52	31,64	30,10	27,28
3	5,54	14,56	28,42	27,11	25,46	21,76	16,80	15,42	13,88	12,51	11,27	10,42
4	13,96	17,15	30,59	84,04	143,21	146,49	143,32	130,64	121,21	98,40	82,62	38,10
5	15,37	23,35	24,53	25,12	30,46	40,95	31,10	27,46	27,62	24,75	25,17	9,01
6	10,28	92,84	213,95	226,98	194,51	191,78	155,96	123,76	79,37	59,92	49,32	22,59
7	9,81	19,12	57,88	119,50	141,81	129,75	135,21	114,51	88,04	80,49	68,55	37,30
8	7,33	54,41	37,97	30,94	32,95	32,91	34,28	25,74	25,39	21,58	17,71	14,98
9	19,80	45,28	53,27	50,20	48,64	45,43	34,36	32,67	32,76	21,10	25,24	28,17
10	12,70	61,75	174,25	251,67	249,67	221,44	178,18	230,48	202,18	165,34	141,91	64,75
11	5,98	9,76	11,28	10,71	11,23	11,91	12,09	12,73	14,08	12,71	12,63	7,70
12	5,51	209,49	206,92	192,20	173,99	170,56	141,34	129,79	86,12	66,16	52,04	27,43
13	8,75	35,02	35,40	42,72	28,61	36,15	43,57	36,13	29,87	21,48	20,90	15,08
14	13,38	21,83	55,49	82,63	101,34	111,95	129,91	140,68	126,34	106,19	100,16	56,19
15	15,71	26,53	20,88	28,98	27,37	27,53	27,28	29,74	26,26	22,75	22,63	21,54
16	4,33	17,86	21,90	30,00	37,78	44,64	47,28	43,45	38,76	29,86	23,74	18,31
17	13,63	118,72	218,14	221,63	183,92	156,94	130,70	109,85	82,75	68,15	69,25	35,59
18	8,81	112,31	102,07	88,42	78,20	58,18	90,15	83,92	57,58	46,04	40,77	23,95
19	12,09	19,47	35,51	34,07	37,49	36,55	37,39	36,79	29,49	26,43	26,02	21,88
20	20,71	74,76	82,23	119,75	121,60	105,72	92,42	81,28	74,65	71,51	66,53	48,99

Tabelle 8-13 Thiamin[±] (ng/ml), Matrix: Plasma, Kap. 2, Abschnitt 4

Pat.	0h	0,5h	0,75h	1h	1,5h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h
1	11,16	14,39	50,44	118,74	150,88	154,46	141,64	102,83	77,73	61,62	53,78	31,68
2	23,20	40,60	55,21	49,69	44,94	47,16	45,56	36,30	30,57	32,74	30,93	28,59
3	9,84	14,56	28,42	27,11	25,46	21,76	16,80	15,56	14,16	12,51	11,27	10,42
4	16,28	19,10	32,60	87,06	145,32	148,59	144,59	132,42	124,02	100,80	86,34	40,39
5	18,96	24,37	25,28	25,88	31,41	41,64	31,93	28,30	28,54	25,70	26,36	10,07
6	13,85	92,85	213,95	226,99	194,52	191,78	155,96	123,76	79,37	59,92	49,32	22,59
7	12,66	22,11	58,70	119,50	142,08	130,80	135,21	114,51	88,04	80,49	68,55	37,30
8	8,15	55,93	39,23	32,12	34,54	33,81	35,62	26,99	26,82	24,07	19,01	14,98
9	20,85	47,24	55,44	52,99	52,78	48,90	36,88	35,34	33,23	21,10	25,24	28,17
10	15,43	64,15	175,55	253,53	252,23	223,02	178,18	232,42	204,05	167,19	143,22	66,34
11	8,11	10,91	12,59	12,00	12,34	12,87	12,69	12,73	14,08	13,24	12,63	7,70
12	7,99	214,01	210,28	195,52	178,62	176,34	146,73	135,12	89,80	69,59	53,60	29,40
13	10,69	37,23	37,23	45,11	30,17	37,68	45,08	36,90	31,62	22,67	21,41	16,32
14	17,13	26,68	60,74	87,63	106,52	117,67	135,92	147,98	135,91	116,34	110,60	63,19
15	17,95	30,70	27,16	38,64	41,34	44,27	48,49	51,57	47,11	41,11	41,61	34,56
16	9,26	25,03	30,59	39,71	49,36	55,49	59,37	53,90	49,93	39,95	32,49	23,09
17	14,09	121,91	221,55	225,61	188,42	158,04	130,70	109,85	82,75	68,15	69,25	35,59
18	9,99	114,75	104,52	91,23	81,03	60,87	93,83	87,14	60,54	49,00	42,48	24,62
19	13,26	21,49	37,73	36,33	40,28	39,11	39,39	38,60	31,81	28,01	26,64	22,74
20	25,35	81,48	89,57	129,10	134,07	121,08	109,32	98,79	93,17	89,92	85,22	64,50

Tabelle 8-14 Thiamin, TMP und Thiamin[±] im 24-h-Urin (µg), Kap. 2, Abschnitt 4

Pat	0-5h	5-10h	10-14h	14-24h	0-5h	5-10h	10-14h	14-24h	0-5h	5-10h	10-14h	14-24h
1	-	-	-	362,1	-	-	-	3,09	-	-	-	364,5
2	52,16	24,13	51,01	117,8	5,30	3,10	8,84	20,9	45,90	21,92	47,11	110,9
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	354,2	867,7	422,6	498,4	13,16	34,05	26,38	57,42	291,0	717,6	355,9	443,6
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	928,3	384,9	-	-	11,32	8,45	-	-	746,8	311,6
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	208,3	247,5	-	-	1,38	2,87	-	-	165,6	197,7	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	18,53	8,89	2,76	14,78	3,98	2,62	1,98	9,65	18,65	9,04	3,71	19,12
14	-	491,3	507,4	-	-	6,46	19,98	-	-	393,9	420,4	-
15	-	-	-	3,70	-	-	-	0,29	-	-	-	3,21
16	-	-	-	172,0	-	-	-	32,57	-	-	-	163,9
17	73,64	-	98,98	-	2,71	-	6,70	-	60,69	-	84,99	-
18	526,2	327,4	242,1	-	19,85	20,16	48,26	-	430,9	280,3	250,6	-
19	5,30	70,41	112,1	-	1,78	18,38	21,59	-	5,57	77,67	105,2	-
20	34,86	-	-	83,58	0,0	-	-	0,0	27,54	-	-	66,01

Tabelle 8-15 Thiamin^Σ-Konzentration (µg/ml) und Thiamin^Σ-Summenkurve im 24-h-Urin (µg), Kap. 2, Abschnitt 4

Pat.	5h	10h	14h	24h	0-5h	0-10h	0-14h	0-24h
1	-	-	-	2,43	-	-	-	364,5
2	0,23	0,22	0,16	0,14	45,90	67,82	114,9	225,8
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1,46	2,24	0,89	0,53	291,0	1008,6	1364,5	1808,1
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	4,64	1,75	-	-	746,8	1058,4
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	3,72	-	1,80	3,72	-	165,6	363,3	363,3
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	0,22	0,12	0,05	0,06	18,65	27,69	31,4	50,52
14	3,43	-	0,87	3,43	-	393,9	814,3	814,3
15	-	-	-	0,31	-	-	-	3,21
16	-	-	-	0,28	-	-	-	163,9
17	0,96	-	-	0,38	60,69	60,69	145,7	145,7
18	1,63	0,67	-	0,22	430,9	711,2	961,8	961,8
19	0,14	0,39	-	0,14	5,57	83,24	188,7	188,7
20	0,68	-	-	0,42	27,54	27,54	27,54	93,55

Tabelle 8-16 Basisdaten der Patienten (I), Nr. 5-31 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, Nr. 6-50 Transplantatempfänger, Kap. 2, Abschnitt 5

Pat. Nr.	Ge-schlecht	Kör-per-höhe (m)	Kör-per-ge-wicht (kg)	BMI (kg/m ²)	Alter (Jahre)	Serum-Harnstoff (mmol/l)	Serum-Kreatinin (µmol/l)	Kreati-nin-Clearance (ml/sec)	RR systo-lisch (mm Hg)	RR diast. (mm Hg)
5	männlich	1,67	62,5	22,4	52	15,1	347,0	-	130	90
7	weiblich	1,54	67,7	29,3	58	27,0	649,0	-	130	90
9	männlich	1,76	85,0	27,4	58	28,8	485,0	18,5	150	100
11	weiblich	1,60	70,0	27,3	71	30,3	819,0	-	140	90
13	männlich	1,88	95,0	26,9	47	24,0	530,0	-	130	80
14	männlich	1,75	73,0	23,8	62	33,1	603,0	0,15	160	100
15	männlich	1,70	65,0	22,5	70	25,4	277,0	0,56	150	80
16	weiblich	-	52,0	-	67	26,8	455,0	0,36	140	80
22	männlich	1,85	75,0	21,9	43	23,7	478,0	0,31	180	105
23	männlich	1,78	78,0	24,6	50	20,7	705,0	-	160	100
25	männlich	1,69	60,0	21,0	33	14,2	222,0	0,58	150	110
27	männlich	1,64	72,0	26,8	67	17,0	354,0	0,43	120	90
30	männlich	1,71	80,9	27,7	60	25,9	901,0	-	140	90
31	männlich	1,72	68,0	23,0	66	26,8	865,0	-	140	95
6	männlich	1,80	95,6	29,5	41	11,6	116,0	-	140	95
8	weiblich	1,69	59,0	20,7	29	6,5	78,0	-	140	95
10	männlich	1,67	65,0	23,3	48	5,1	75,0	1,60	170	100
12	männlich	-	-	-	60	-	94,0	-	-	-
17	weiblich	1,54	56,5	23,8	43	14,5	228,0	0,63	140	80

(Fortsetzung Tabelle 8-16)

18	weiblich	1,68	52,5	18,6	44	11,7	167,0	0,77	140	70
19	männlich	1,70	86,0	28,8	34	8,4	138,0	1,08	135	90
20	weiblich	1,64	66,0	24,5	50	-	137,0	0,50	130	90
21	männlich	1,82	67,5	20,4	42	17,5	255,0	0,48	160	120
24	männlich	1,88	99,0	28,0	61	10,2	131,0	1,10	140	80
26	männlich	1,74	79,0	26,1	63	10,4	145,0	0,93	125	90
29	männlich	1,73	68,0	20,6	60	5,8	94,0	1,19	130	80
33	weiblich	1,58	74,0	22,7	58	6,4	97,0	0,87	140	110
36	männlich	1,76	74,0	29,6	58	7,1	88,0	1,23	130	80
37	männlich	1,67	66,2	23,9	28	10,2	142,0	0,53	140	90
39	männlich	1,72	66,0	26,5	53	6,7	95,0	1,29	150	90
42	männlich	1,61	64,0	22,3	55	6,0	82,0	1,57	100	70
46	männlich	1,75	80,0	24,7	35	7,1	127,0	1,03	160	120
50	männlich	1,65	81,4	29,9	60	6,9	103,0	-	120	80

Tabelle 8-17 Basisdaten der Patienten (II), Nr. 5-31 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, Nr. 6-50 Transplantatempfänger, Kap. 2, Abschnitt 5

Pat.	Serum-Harnsäure (µmol/l)	Serum-Protein (g/l)	Serum-Albumin (g/l)	Proteinausscheidung (g/24h)	Hb (mmol/l)	Hk (%)	Serum-Eisen (µmol/l)	Serum-Ferritin (µg/l)	Serum-Transferrin	Urin-Volumen (ml/24h)
5	322	64,4	-	2,17	7,9	38	-	-	-	212,6
7	285	63,3	-	1,17	5,3	25	18,1	-	1,79	126,6
9	375	77,0	-	1,00	7,7	36	-	-	-	257,3
11	448	68,5	-	0,65	6,4	30	-	-	-	168,9
13	387	-	-	-	11,4	34	-	-	-	239,0
14	316	60,5	32,6	1,00	7,1	35	14,4	-	2,67	150,7
15	-	76,5	41,1	0,00	6,4	31	16,8	78,4	2,06	293,8
16	318	60,1	42,9	1,00	5,3	26	17,9	138,9	1,59	211,1
22	428	66,1	41,0	1,00	6,4	32	19,1	245,6	2,16	149,2
23	350	68,7	-	-	6,1	29	20,5	244,4	2,39	399,6
25	431	75,6	45,7	1,00	9,1	43	-	-	-	358,6
27	411	69,7	-	1,80	7,2	33	-	-	-	228,7
30	341	66,6	-	2,85	7,1	34	-	-	-	251,0
31	271	68,3	-	4,00	7,8	38	-	-	-	241,7
6	575	71,0	46,0	0,00	10,0	51	9,4	-	-	2800,0
8	409	72,8	-	0,00	11,0	51	-	-	-	5000,0
10	-	46,9	40,3	0,00	11,4	56	13,5	65,5	2,71	1500,0
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3400,0
17	309	73,1	41,9	0,00	7,4	35	17,5	219,1	3,32	2700,0
18	322	55,1	29,4	3,48	9,4	45	12,3	18,5	2,75	2900,0
19	291	75,3	43,4	0,00	9,7	46	29,0	275,7	2,66	1700,0
20	313	61,1	35,8	0,00	6,9	35	15,4	138,0	2,58	1700,0
21	393	65,9	39,4	0,00	8,3	39	13,0	100,3	3,09	2000,0
24	318	66,1	41,6	0,00	8,7	37	25,1	496,7	2,31	2200,0
26	-	66,2	40,5	0,00	9,7	47	24,4	-	-	2000,0
29	134	66,4	37,8	0,00	7,7	37	-	-	-	2700,0
33	362	75,7	47,6	0,00	8,2	38	20,7	197,6	2,56	1800,0
36	288	65,5	39,1	0,00	8,0	40	7,5	5,6	3,50	1800,0

(Fortsetzung Tabelle 8-17)

37	288	74,0	50,6	0,00	8,4	40	36,5	2500,0	2,01	1700,0
39	242	67,8	41,7	0,00	11,7	52	13,2	44,2	3,82	2300,0
42	272	68,4	43,7	1,10	9,5	45	21,7	242,5	-	2100,0
46	431	69,9	42,9	-	9,9	46	25,6	-	-	2000,0
50	389	78,7	34,4	0,00	8,4	42	-	-	-	2700,0

Tabelle 8-18 Basisdaten der Patienten (III), Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5

Pat. Nr.	Geschlecht	Körperhöhe (m)	Körpergewicht (kg)	BMI (kg/m ²)	Alter (Jahre)	Serum-Harnstoff (mmol/l)	Serum-Kreatinin (µmol/l)	Dialysehäufigkeit (n/Wo.)	RR systolisch (mm Hg)	RR diast. (mm Hg)
100	weiblich	1,64	57,5	21,4	41	24,0	937,0	3	130	80
101	männlich	1,70	74,5	25,8	51	34,0	963,0	3	142	75
103	männlich	1,60	58,5	22,9	75	28,0	1016,0	3	140	90
105	männlich	1,92	89,0	24,1	42	28,0	1193,0	3	140	90
108	weiblich	1,59	54,0	21,4	44	28,0	1007,0	3	145	70
109	männlich	1,90	86,0	23,8	42	21,0	1158,0	3	130	90
110	männlich	1,78	69,0	21,8	31	26,0	1264,0	3	125	80
112	männlich	1,84	69,5	20,5	37	28,0	954,7	3	140	80
113	weiblich	1,60	51,5	20,1	68	19,0	654,2	3	130	70
117	männlich	1,72	68,2	23,1	34	25,0	875,2	3	90	60
119	weiblich	1,48	46,0	21,0	62	21,0	654,0	3	140	90
120	männlich	1,75	75,0	24,5	62	32,0	556,0	3	115	80
121	weiblich	1,60	71,0	27,7	71	24,0	875,0	2	120	70
122	männlich	1,68	69,4	24,6	56	29,0	769,0	2	130	80
123	weiblich	1,50	55,0	24,4	60	19,0	733,0	3	110	90
102	männlich	1,75	69,5	22,7	56	21,0	610,0	3	110	80
104	männlich	1,75	92,5	30,2	49	41,0	1343,7	3	125	85
106	männlich	1,88	99,0	28,0	65	31,3	1184,6	3	160	110
107	männlich	1,81	68,0	20,8	44	27,0	998,0	-	130	85
111	weiblich	1,68	63,0	22,3	57	21,0	707,0	3	130	90
114	weiblich	1,64	46,5	17,3	21	23,0	804,0	3	120	75
115	weiblich	1,49	53,0	23,9	39	29,0	945,0	3	155	90
116	weiblich	1,58	67,5	27,0	61	25,0	981,0	3	130	80
118	männlich	1,69	76,6	26,8	54	26,0	680,7	3	120	80

Tabelle 8-19 Basisdaten der Patienten (IV), Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5

Pat. Nr.	Dialysatflussrate (ml/min)	Blutflussrate (ml/min)	Dauer der Einzelbehandlung (min)	Dauer d. Dialysebehandlung (Mo.)	Membran	Serum-Protein (g/l)	Serum-Albumin (g/l)	Hb (mmol/l)	Hk (%)
100	500	270-280	180-240	10	Low-Flux	68,0	32,0	6,3	29
101	500	270-280	180-240	12	Low-Flux	69,0	44,2	6,5	30
103	500	270-280	180-240	18	Low-Flux	70,0	45,4	7,6	35
105	-	230-260	180-240	27	High-Flux	72,0	46,7	6,2	29

(Fortsetzung Tabelle 8-19)

108	500	230-260	180-240	-	High-Flux	64,0	55,3	5,6	25
109	500	> 300	180-240	35	High-Flux	77,0	47,7	7,6	35
110	500	270-280	> 240	43	High-Flux	63,0	44,0	7,4	35
112	500	270-280	> 240	-	High-Flux	68,0	28,5	4,6	21
113	500	270-280	180-240	32	Low-Flux	68,0	63,3	6,3	30
117	-	230-260	> 240	86	Low-Flux	56,0	62,0	6,0	30
119	-	230-260	180-240	18	Low-Flux	78,0	58,5	6,5	30
120	-	230-260	180-240	1	Low-Flux	61,3	32,8	5,3	25
121	-	270-280	180-240	3	Low-Flux	63,5	-	7,9	37
122	-	230-260	180-240	1	Low-Flux	74,0	45,1	6,3	29
123	-	270-280	180-240	1	Low-Flux	59,0	58,7	8,1	39
102	500	230-260	180-240	52	Low-Flux	73,0	42,3	7,1	34
104	500	230-260	> 240	49	High-Flux	70,0	46,3	5,9	28
106	500	270-280	> 240	22	High-Flux	65,0	41,5	6,0	29
107	-	270-280	> 240	-	High-Flux	69,0	46,2	7,7	36
111	-	230-260	> 240	66	Low-Flux	76,0	46,8	8,6	41
114	500	270-280	> 240	13	Low-Flux	72,0	48,5	7,0	33
115	500	270-280	180-240	58	Low-Flux	75,0	45,9	7,1	33
116	500	230-260	180-240	39	Low-Flux	59,0	39,8	5,8	28
118	-	270-280	> 240	31	Low-Flux	61,0	39,8	7,7	38

Tabelle 8-20 Basisdaten der Patienten (V), Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5

Pat. Nr.	Serum-Harnsäure (µmol/l)	Serum-Eisen (µmol/l)	Serum-Ferritin (µg/l)	Serum-Transferrin (g/l)	Status der habituellen Urinausscheidung	Urin-Volumen (ml/24h)
100	350,0	20,9	305,0	172,0	Anurie	110,0
101	345,0	9,7	642,0	131,0	keine Ausscheidung	1200,0
103	476,0	12,9	172,0	209,0	Anurie	480,0
105	-	11,8	551,0	20,0	Anurie	180,0
108	287,0	13,0	279,0	187,0	keine Ausscheidung	0,0
109	464,0	15,9	260,0	184,0	keine Ausscheidung	0,0
110	452,0	12,6	673,0	145,0	keine Ausscheidung	0,0
112	522,0	19,6	2500,0	1,48	keine Ausscheidung	0,0
113	392,6	13,0	328,0	195,0	Anurie	30,0
117	-	10,5	5,2	341,0	keine Ausscheidung	0,0
119	654,0	6,0	157,0	29,9	Anurie	100,0
120	-	-	124,0	307,0	Anurie	100,0
121	-	17,5	166,0	2,12	Nokturie	1500,0
122	-	33,0	-	-	Nokturie	1600,0
123	321,0	32,7	864,2	163,0	Anurie	95,0
102	446,0	7,5	68,9	1,7	Anurie	60,0
104	481,8	23,3	1266,0	172,0	Anurie	80,0
106	196,0	13,8	619,0	147,0	keine Ausscheidung	0,0
107	368,0	9,0	459,0	26,0	Anurie	500,0
111	276,0	9,3	162,0	183,0	keine Ausscheidung	0,0
114	373,0	23,8	173,0	2,1	Anurie	550,0
115	369,0	10,0	1140,0	147,0	keine Ausscheidung	0,0

(Fortsetzung Tabelle 8-20)

116	494,0	17,8	244,0	160,0	keine Ausscheidung	0,0
118	422,0	10,9	46,2	218,0	Anurie	300,0

Tabelle 8-21 Indikatoren des Thiaminstatus, Basalwerte, Nr. 5-31 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, Nr. 6-50 Transplantatempfänger, Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5

Pat.	Thiamin-zufuhr (mg)	Thiamin ^Σ -aus-scheidung (µg/24h)	Plasma-Thiamin ^Σ (ng/ml)	α-ETK	Pat.	Thiamin-zufuhr (7d-P) einschl. Suppl.	Thiamin-zufuhr (7d-P) ohne S. nach 14d	Plasma-Thiamin ^Σ (ng/ml)	Thiamin ^Σ -aus-scheidung (µg/24h)	α-ETK
5	1,00	97,82	13,62	1,05	100	1,14	0,70	25,77	-	1,18
7	0,79	0,00	24,92	1,46	101	1,87	0,60	10,77	-	1,09
9	1,59	87,70	13,01	1,54	103	1,62	0,50	36,17	1,69	1,00
11	1,06	0,00	15,94	1,07	105	1,80	1,30	26,69	1,69	1,53
13	0,78	7,76	26,04	1,00	108	1,68	1,00	29,84	-	1,17
14	1,96	60,71	15,09	1,08	109	1,26	-	29,06	-	1,09
15	1,27	111,31	26,15	1,00	110	2,39	0,50	17,26	-	1,22
16	1,12	21,59	13,01	1,22	112	1,94	0,80	11,16	-	1,10
22	1,27	94,44	16,20	1,00	113	1,44	1,00	22,91	0,34	1,00
23	2,02	3,04	17,35	1,41	117	1,63	1,00	21,08	-	1,13
25	1,72	148,41	35,83	1,13	119	2,09	1,00	30,73	-	1,05
27	1,27	64,09	33,48	1,09	120	1,91	0,90	20,46	10,79	1,00
30	0,96	7,08	30,67	1,31	121	1,41	0,80	35,38	-	1,06
31	0,80	0,00	-	-	122	1,79	0,90	8,96	-	1,03
6	1,46	124,80	25,28	1,27	123	1,33	0,60	19,95	0,34	1,04
8	1,45	74,21	8,00	1,17	102	3,96	0,40	40,83	0,34	1,03
10	1,22	145,04	7,65	1,15	104	4,42	-	35,96	0,67	1,22
12	0,90	239,48	13,42	1,07	106	4,43	0,60	64,14	-	1,17
17	1,11	-	24,10	1,35	107	5,17	1,30	37,04	1,01	1,17
18	1,93	249,60	23,60	1,15	111	4,06	1,40	50,42	-	1,27
19	1,12	107,94	11,98	1,27	114	4,09	0,40	16,32	5,40	1,15
20	1,08	-	11,52	1,18	115	4,31	0,50	15,90	-	1,38
21	1,80	-	25,49	1,40	116	4,54	1,10	17,31	-	1,28
24	1,10	77,58	18,68	1,37	118	4,60	0,90	8,21	-	1,06
26	1,46	70,83	29,02	1,25						
29	2,07	532,93	30,22	1,19						
33	1,31	269,84	24,49	1,27						
36	1,86	283,33	9,24	1,15						
37	1,67	138,29	11,10	1,69						
39	1,40	148,41	8,20	1,00						
42	1,78	114,68	28,09	1,20						
46	1,15	-	18,10	1,03						
50	1,13	344,05	24,90	1,12						

Tabelle 8-22 Indikatoren des Thiaminstatus, Supplementierungsphase, Nr. 100-123 Dialysepatienten mit 1,5 mg T-HCl p.o., Nr. 102-128 Dialysepatienten mit 8,0 mg T-HCl p.o., Kap. 2, Abschnitt 5

Pat.	Thiamin ^Σ - aus- scheidung (µg/24h), vor 1. Dialy- setag	Thiamin ^Σ - aus- scheidung (µg/24h), vor 2. Dialy- setag	Plasma- Thiamin ^Σ (ng/ml) vor 1. Dialysetag	Plasma- Thiamin ^Σ (ng/ml) nach 1. Dialysetag	Plasma- Thiamin ^Σ (ng/ml) vor 2. Dialysetag	α-ETK, vor 1. Dialysetag	α-ETK, vor 2. Dialysetag
100	-	0,44	25,77	25,36	12,88	1,18	1,29
101	-	0,37	10,77	25,65	11,79	1,09	1,04
103	1,69	-	36,17	33,77	41,91	1,00	1,00
105	1,69	1,01	26,69	9,02	7,44	1,53	1,02
108	-	-	29,84	5,29	11,66	1,17	1,30
109	-	-	29,06	4,02	4,90	1,09	1,16
110	-	-	17,26	14,73	13,38	1,22	1,24
112	-	-	11,16	13,52	11,86	1,10	1,07
113	0,34	-	22,91	24,03	24,63	1,00	1,19
117	-	-	21,08	16,79	19,94	1,13	1,11
119	-	-	30,73	26,51	34,58	1,05	1,01
120	10,79	33,73	20,46	9,73	32,77	1,00	1,03
121	-	-	35,38	16,41	31,35	1,06	1,05
122	-	-	8,96	0,95	29,99	1,03	1,07
123	0,34	0,30	19,95	10,15	42,48	1,04	1,05
102	0,34	-	40,83	12,46	35,83	1,03	1,20
104	0,67	0,71	35,96	11,53	8,78	1,22	1,15
106	-	-	64,14	37,56	43,11	1,17	1,00
107	1,01	0,78	37,04	7,40	29,03	1,17	1,14
111	-	-	50,42	59,56	25,89	1,27	1,00
114	5,40	-	16,32	16,21	12,91	1,15	1,06
115	-	-	15,90	15,24	12,63	1,38	1,05
116	-	-	17,31	5,05	17,62	1,28	1,16
118	-	-	8,21	21,01	24,95	1,06	1,15

Tabelle 8-23 Indikatoren des Thiaminstatus, Auslassphase, Dialysepatienten

Pat.	Thiamin ^Σ - aus- scheidung (µg/24h), vor 1. Dialy- setag	Thiamin ^Σ - aus- scheidung (µg/24h), vor 2. Dialy- setag	Plasma- Thiamin ^Σ (ng/ml) vor 1. Dialysetag	Plasma- Thiamin ^Σ (ng/ml) nach 1. Dialysetag	Plasma- Thiamin ^Σ (ng/ml) vor 2. Dialysetag	α-ETK, vor 1. Dialysetag	α-ETK, vor 2. Dialysetag
100	0,44	0,07	34,15	29,64	6,14	1,00	1,12
101	7,02	2,70	16,32	33,15	22,69	1,30	1,06
102		-	56,82	52,89	44,33	1,03	1,05
103	7,76	10,46	46,67	25,68	23,82	1,54	1,00
104		-	-	-	-	-	-
105	0,98	2,66	7,77	11,28	20,40	1,25	1,00
106		-	27,84	37,66	13,46	1,05	1,05
107	0,07	0,98	28,88	24,44	28,00	1,00	1,06

(Fortsetzung Tabelle 8-23)

108	-	-	11,30	10,10	25,47	1,09	1,04
109	-	-	30,08	11,47	13,47	1,13	1,05
110	-	-	35,65	11,60	29,01	1,38	1,25
111	-	-	93,59	94,07	63,16	1,04	1,06
112	-	-	5,27	20,75	30,35	1,07	1,22
113	-	-	7,70	10,45	25,14	1,04	1,06
114	-	4,05	13,53	16,11	11,76	1,24	1,20
115	-	-	10,60	7,13	12,16	1,00	1,11
116	-	-	10,06	14,78	6,48	1,17	1,38
117	-	-	38,46	32,91	32,99	1,06	1,10
118	-	3,37	34,73	33,02	32,37	1,06	1,06
119	-	4,05	19,95	56,48	6,75	1,17	1,02
120	-	5,40	36,39	32,41	10,21	1,09	1,08
121	-	-	10,04	9,67	9,90	1,07	1,06
122	-	-	23,30	29,45	23,66	1,18	1,03
123	-	-	8,47	27,16	29,05	1,00	1,50

Tabelle 8-24 Prüfmedikation (Kap. 2, Abschnitt 5)

<p>Verum A: „Ren-O-Vit®“</p> <p><i>1 Tablette enthält:</i> 0,3 mg Biotin 1,0 mg Folsäure 1,5 mg Thiaminchloridhydrochlorid 1,7 mg Riboflavin 6,0 mg Cyanocobalamin 10 mg Pyridoxinhydrochlorid 10 mg Pantothersäure 20 mg Nicotinamid 60 mg Ascorbinsäure (übliche Handelsware)</p>	<p>Verum B: „Dreisavit®“</p> <p><i>1 Filmtablette enthält:</i> 0,03 mg Biotin 0,16 mg Folsäure 8,0 mg Thiaminchloridhydrochlorid 8,0 mg Riboflavin 10 mg Pyridoxinhydrochlorid 10 mg Pantothersäure 50 mg Nicotinamid 100 mg Ascorbinsäure (übliche Handelsware)</p> <p>Hersteller: Gry-Pharma, Kirchzarten</p>
--	---

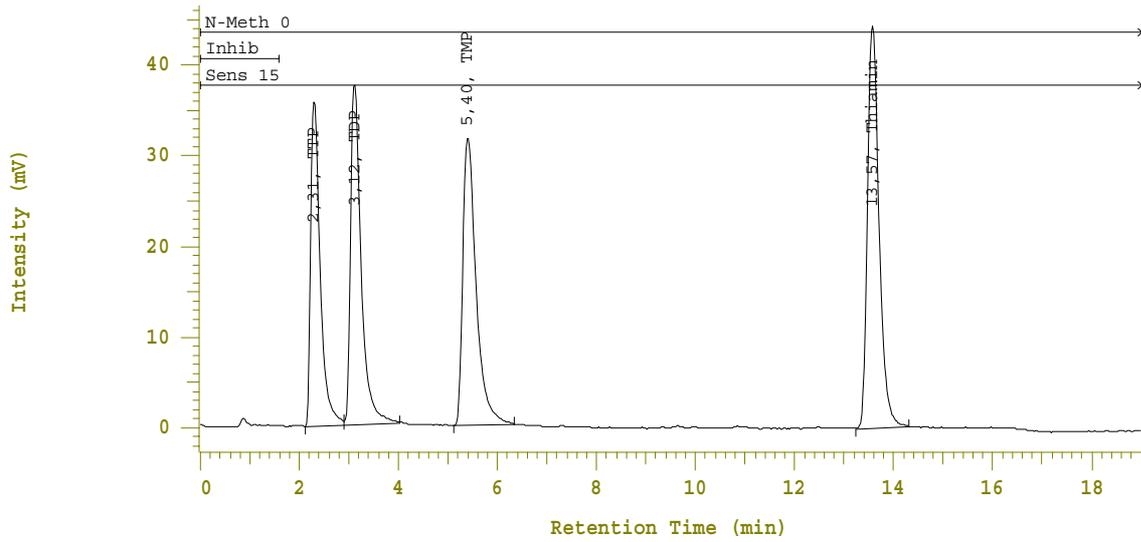


Abb. 8-1 Chromatogramm einer Standardlösung (150 nM)

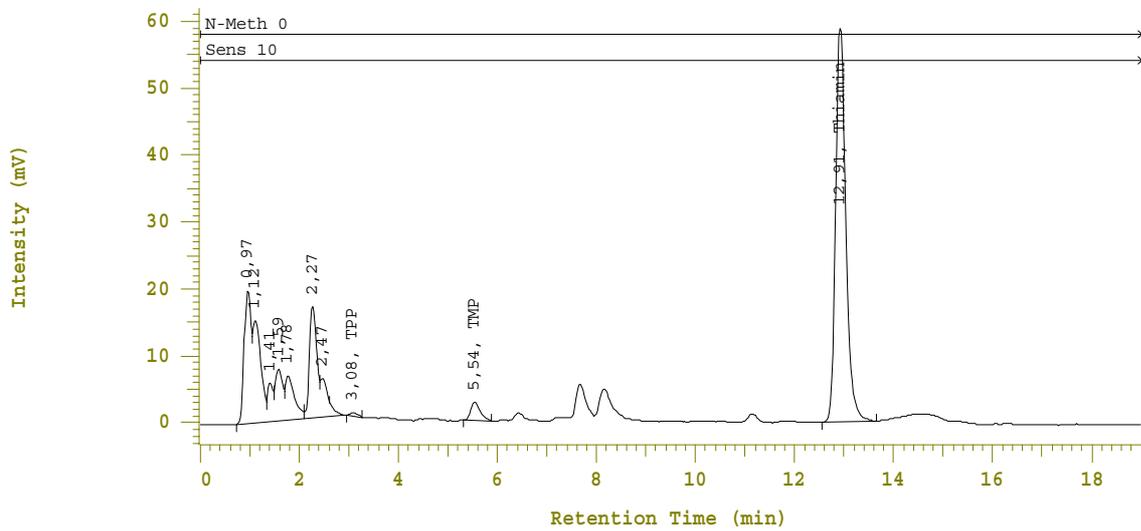


Abb. 8-2 Chromatogramm einer Plasmaprobe

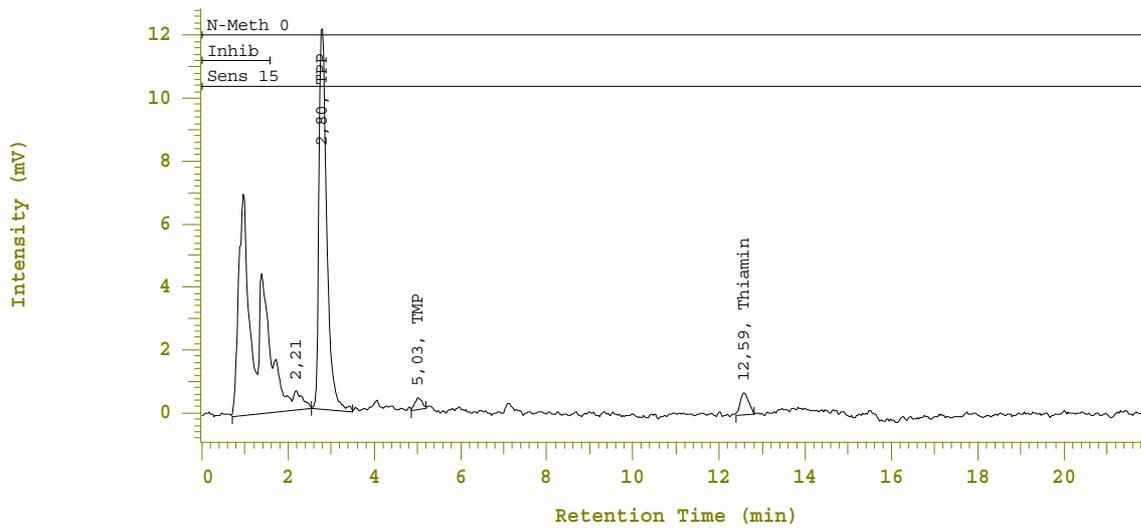


Abb. 8-3 Chromatogramm einer Vollblut-Probe

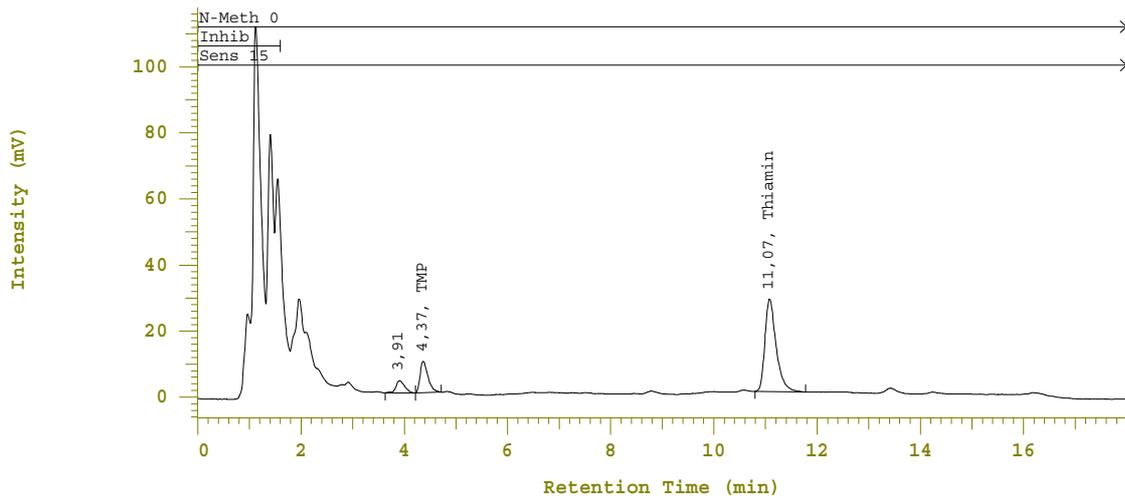


Abb. 8-4 Chromatogramm einer Urin-Probe

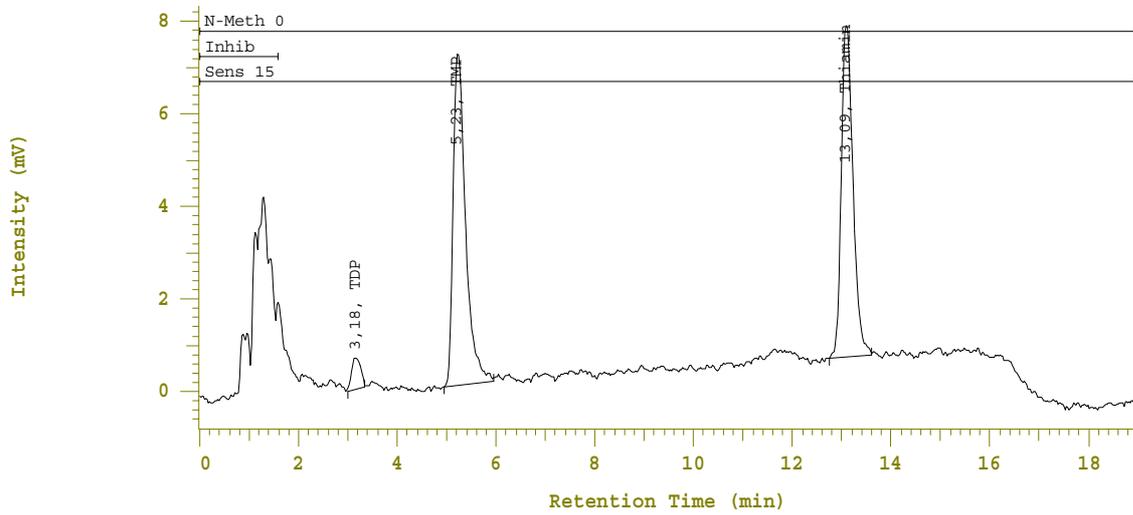


Abb. 8-5 Chromatogramm einer Liquorprobe

DANKSAGUNGEN/WIDMUNGEN

An dieser Stelle geht mein ganz besonderer Dank an Herrn Prof. Dr. R. Bitsch für die Überlassung des Themas, die hilfreichen Diskussionen und für die Möglichkeit, während der ganzen Promotionszeit weitgehend selbstständig in seinem Lehrbereich zu arbeiten.

Herrn Prof. Dr. med. G. Stein vom Universitätsklinikum, Klinik für Innere Medizin IV, danke ich für die Übernahme des Koreferates, die Gewährleistung einer hervorragenden Kooperation, die organisatorische Leitung der Studien in Abschnitt 4 und 5 und die Bereitstellung seines Labors zur Probenaufbereitung.

Herrn Dr. med. J. Maiwald vom Universitätsklinikum, Klinik für Innere Medizin IV, danke ich ganz besonders für die gewissenhafte Durchführung der Patientenrekrutierung, Blutentnahme und klinische Dokumentation der Patientendaten (Abschnitt 4), seine hilfreichen Tipps und seine freundliche Aufnahme auf Station.

Herrn Prof. Dr. med. G. Reichel und Herrn OA Dr. Bormann von der neurologischen Abteilung der Paracelsus-Klinik Zwickau (Paracelsus-Kliniken-Deutschland GmbH) danke ich für die organisatorische und praktische Durchführung der AWB in Abschnitt 6.

Frau Dipl. troph. K. Czeche danke ich für die Durchführung der Messungen und Überlassung der Daten zur statistischen Auswertung (Abschnitt 5).

Bedanken möchte ich mich bei allen Patienten des Universitätsklinikums, Klinik für Innere Medizin IV, Abt. Nephrologie und des Kuratoriums für Dialyse und Nierentransplantation e.V. (KfH), Zentrum Jena, sowie der Paracelsus-Klinik Zwickau, die trotz ihres Leidens mit großartiger Gelassenheit und Compliance ganz entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

Ausdrücklich bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. D. Brockmeier, Gießen, Herrn G. Heinzl und Herrn R. Woloszczak, Schering AG, für die hilfreiche Diskussion der PK.

Der Firma Wörwag Pharma GmbH, Böblingen, danke ich für den Anstoß zu den Projekten in Abschnitt 4 und 6, die Bereitstellung der Prüfmedikation und die finanzielle Unterstützung.

Dem Land Thüringen danke ich für die zweijährige finanzielle Förderung mit einem Stipendium nach der Thüringer Graduiertenförderungsverordnung.

Weiterer Dank gilt allen nicht namentlich genannten Mitarbeitern/Mitarbeiterinnen des Instituts für Ernährungswissenschaften für die gute Zusammenarbeit in all den Jahren.

Meinen lieben Eltern widme ich diese Arbeit, da sie mich in allen Lebenslagen beständig unterstützten, meiner Babett für ihre unendliche Liebe, Geduld und aufbauenden Worte...

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich in Kenntnis der geltenden Promotionsordnung der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät, dass ich die Dissertation selbstständig ohne unerlaubte Hilfsmittel angefertigt habe und dass die vorliegende Arbeit weder identisch noch teilentisch mit einer Arbeit ist, die an der Friedrich-Schiller-Universität Jena oder einer anderen Hochschule zur Erlangung eines akademischen Grades oder als Prüfungsleistung vorgelegt worden ist.

Jena, 27.11.2000

Lebenslauf

Name:	Thomas Frank
Geburtsdatum:	10.11.1971
Geburtsort:	Erfurt
Familienstand:	ledig
<i>Schulbildung</i>	
1978 – 1988	Zehnklassige Allgemeinbildende Polytechnische Oberschule IX in Arnstadt
1988 – 1990	Erweiterte Oberschule „Theodor Neubauer“ in Arnstadt
30.06.1990	Allgemeine Hochschulreife
01.09.1990 – 31.08.1991	Zivildienst im Marienstift Orthopädische Klinik Arnstadt
<i>Studium</i>	
01.10.1991 – 30.09.1995	Studium der Ernährungswissenschaften an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
06.11.1995	Abschluss als Diplom-Ernährungswissenschaftler (Diplom-Trophologe)
<i>Postgraduale Ausbildung</i>	
Nov. 1995-März 1996	wissenschaftliche Hilfskraft am Lehrstuhl Humanernährung des Instituts für Ernährungswissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität
01.04.1996 – 31.03.1998	Stipendiat des Landes Thüringen (Stipendium nach Thüringer Graduiertenförderungsverordnung)
Seit 15.04.1998	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl Humanernährung des Instituts für Ernährungswissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität
<i>Sonstiges</i>	
29.8.1998-1.9.1998	Posterbeitrag auf 9 th International Congress on NUTRITION AND METABOLISM IN RENAL DISEASE der ERA/EDTA, Vienna, Austria

Publikationen in referierten Zeitschriften:

- FRANK, T., BITSCH, R., MAIWALD, J. & STEIN, G. (1999) Alteration of thiamine pharmacokinetics by end-stage renal disease (ESRD) *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **37**(9), 449-455.
- FRANK, T., BITSCH, R., MAIWALD, J. & STEIN, G. (2000) High thiamine diphosphate concentrations in erythrocytes can be achieved in dialysis patients by oral administration of benfotiamine *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **56**, 251-257.
- FRANK, T., CZECHÉ, K., BITSCH, R. & STEIN, G. (2000) Assessment of thiamin status in chronic renal failure patients, transplant recipients and hemodialysis patients receiving a multivitamin supplementation *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **70**(2), 27-31.
- FRANK, T. & KRAUß, B. (2000) 10 Jahre Ernährungswissenschaften in Jena aus der Sicht von Studenten und Absolventen *Ernährungs-Umschau* **47**(7), 261-264.
- FRANK, T., KÜHL, M., MAKOWSKI, B., BITSCH, R., JAHREIS, G. & HÜBSCHER, J. (2000) Does a 100-km walking affect indicators of vitamin status? *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **70**(5), 238-250.
- FLADER, D., SCHUBERT, R., JAHREIS, G., FRANK, T. & HÜBSCHER, J. (2000) Veränderungen der Konzentration an freien Aminosäuren im Serum während eines 100-km Laufes *Proc. Germ. Nutr. Soc.* **2**, 37.
- GEYER, J., NETZEL, M., BITSCH, I., FRANK, T., BITSCH, R., KRÄMER, K. & HOPPE, P.P. (2000) Bioavailability of water- and lipid soluble thiamin compounds in broiler chickens *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **70**(6), 311-316.