

Cobalamin coenzyme forms are not likely to be superior to cyano- and hydroxylcobalamin in prevention or treatment of cobalamin deficiency

Obeid R, Fedosov SN, Nexo E

Mol Nutr Food Res 2015; 59 (7): 1364-1372; DOI: 10.1002/mnfr.201500019

Zusammenfassung / Schlussfolgerung

Methylcobalamin (MeCbl) und Adenosylcobalamin (AdoCbl) sind Coenzyme der Methioninsynthase und Methylmalonyl-CoenzymA-Mutase. Zur Supplementation werden häufig Hydroxylcobalamin (HOCbl) und Cyanocobalamin (CnCbl) verwendet. In letzter Zeit haben sich MeCbl und AdoCbl als alternative Formen für die Supplementation entwickelt. Vor dem Hintergrund der metabolischen Umwandlung von Cobalamin in seine Cofaktoren wird in dem vorliegenden Review die derzeitige Evidenz der Wirksamkeit und des Nutzens der verschiedenen Cobalaminformen für Prävention oder Therapie des Vitamin-B₁₂-Mangels diskutiert.

Chemie, Physiologie und Biochemie von Cobalamin deuten darauf hin, dass MeCbl und AdoCbl demselben intrazellulären Stoffwechselweg folgen wie CNCbl. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Supplementierung mit MeCbl oder AdoCbl verglichen mit CNCbl wahrscheinlich keine Vorteile hat. Bei der Therapie von seltenen angeborenen Vitamin-B₁₂-Stoffwechselstörungen hat die hohe parenterale Gabe (1-2 mg) von HOCbl deutliche Vorteile.

Einführung / Problemstellung

Vitamin B₁₂ (Cyanocobalamin, CNCbl) wurde in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts entdeckt und als sog. Anti- perniziöse-Anämie-Faktor identifiziert. Die zwei Coenzyme 5'Deoxy-5'Adenosyl-Cobalamin (AdoCbl) und Methylcobalamin (MeCbl) wurden später entdeckt. In Zellen von Säugetieren dient MeCbl als Cofaktor für die zytosolische Methioninsynthase, wohingegen AdoCbl als Cofaktor der mitochondrialen Methylmalonyl-CoA(MM-CoA)-Mutase fungiert. Hydroxycobalamin (HOCbl) ist eine physiologisch relevante Zwischenform, die in vitro unter bestimmten Bedingungen aus MeCbl und AdoCbl gebildet wird. Cobalamin (Cbl) ist erforderlich für die DNA-Synthese, die Übertragung einer Methylgruppe sowie für den Stoffwechsel von Aminosäuren und Fettsäuren mit ungerader Anzahl an Kohlenstoffatomen.

Es gibt eine Vielfalt von Cbl-Formen, die die gleiche Kernstruktur, aber unterschiedliche Liganden enthalten. CNCbl ist eine stabile und kostengünstige synthetische Form, die üblicherweise zur Lebensmittelanreicherung und für orale oder parenterale Supplemente verwendet wird. Die physiologischen Formen von Cbl (HOCbl, AdoCbl und MeCbl) sind als Supplemente mit unterschiedlichen Applikationsformen verfügbar. CNCbl muss in MeCbl und AdoCbl überführt werden, um seine biologische Wirkung auf die Zelle auszuüben. Der Ersatz von CNCbl/HOCbl durch die Coenzyme wurde kürzlich entdeckt. Die Supplementation mit MeCbl und AdoCbl wird als effektiver postuliert als die von CNCbl/HOCbl. Personen mit Vitamin-B₁₂-Mangel direkt die

aktiven Cbl-Formen zu verabreichen scheint attraktiv. Dabei stellen sich jedoch zwei Fragen:

- ◆ Können substituierte MeCbl oder AdoCbl den Bestimmungsort in der Zelle ohne Modifikation erreichen, um ihre Funktionen auszuüben wie die physiologisch aktiven Coenzyme?
- ◆ Reicht der Evidenzgrad aus, um das kostenaufwändigere Konzept, also die Gabe von MeCbl und AdoCbl, als Alternative zu CNCbl/HOCbl zu empfehlen?

Thema / Ziel des Reviews

In dieser Literaturübersicht wird die verfügbare Evidenz der Effizienz und des Nutzens der verschiedenen Cbl-Formen zur Prävention oder Therapie eines Vitamin-B₁₂-Mangels diskutiert im Hinblick auf Chemie, Transport und intrazellulären Stoffwechsel von Cbl.

Cobalaminmangel

- ◆ Eine häufige Ursache für einen Vitamin-B₁₂-Mangel ist die unzureichende Zufuhr mit der Nahrung.
- ◆ Auch eine ausreichende Aufnahme sichert allerdings nicht immer eine optimale Versorgung. Ein milder bis moderater Mangel ist in den Industrienationen trotz ausreichender Zufuhr verbreitet, was durch eine altersbedingte reduzierte Freisetzung von Cbl aus der Nahrung oder eine beeinträchtigte intestinale Cbl-Absorption zu erklären sein dürfte. Eine perniziöse Anämie ist eine Autoimmunerkrankung, die zu einer unzureichenden Produktion von Intrinsic Faktor (IF) führt, ein Protein, das die rezeptorvermittelte Cbl-Absorption ermöglicht. Dies kann zu einem schweren Vitamin-B₁₂-Mangel führen.

- ◆ Ein Vitamin-B₁₂-Mangel aufgrund einer Nahrungsbedingten Cbl-Malabsorption kann durch orale Supplementation mit <500 µg Vitamin B₁₂ pro Tag verhindert werden, während Patienten mit perniziöser Anämie pharmakologische Dosierungen von oral ≥500 µg/d benötigen oder parenteral ≥1000 µg in regelmäßigen Intervallen.

Chemie der Cobalamine

- ◆ Cbl bezeichnet ein Kollektiv von Verbindungen mit ähnlicher Struktur, die im Zentrum ein Cobaltion (Co) besitzen. Es handelt sich um ein Corrin-Ringsystem bestehend aus vier Pyrrolringen. Es gibt zwei axiale Positionen, an denen unterschiedliche Liganden mit dem Co-Ion verbunden sein können. Der Ligand auf der oberen Oberfläche des Ringes (β-Oberfläche) kann Cyanid (CN⁻) sein, Wasser (H₂O oder HO je nach Umgebungs-pH-Wert), eine Alkylgruppe (z. B. Methyl (Me) oder 5'-Deoxyadenosyl (Ado)) oder ein anderer Ligand. Die Methylgruppe in MeCbl ist einer der stärksten Liganden, während Wasser in HOCbl zu den schwächsten Liganden zählt.
- ◆ Die Nucleotidbasis 5,6-Dimethylbenzimidazol (DMB) stellt den Liganden auf der unteren Oberfläche des Corrin-Rings (α-Oberfläche). Der Oxidationszustand von Cbl beeinflusst die Assoziation der unteren und oberen Liganden des Corrin-Rings.
- ◆ Generell existiert Cbl (Co²⁺ und Co³⁺) in Lösung in „base-on“-Formen, d.h. DMB ist auf der α-Oberfläche des Corrin-Rings angeordnet.
- ◆ Die Co-N-Verbindung zwischen Co und DMB ist nicht stark und die Nucleotidbasis kann abhängig von pH-Wert, Temperatur, Proteinumgebung und Oxidationsstatus des Co-Ions dissoziieren. Cbl-Konfigurationen mit einer dissoziierten Basis werden als „base-off“ bezeichnet. Die Cobalamin-transportierenden Proteine Haptocorrin (HC), IF und Transcobalamin (TC) binden „base-on“-Cobalamine. Die Cbl-abhängige MM-CoA-Mutase, Methionin-Synthase oder Chaperon MMACHC (Methylmalonazidurie and Homocystinurie Typ C protein) binden Cobalamin in der „base-off“-Form. Der Wechsel zwischen der „base-on“- und „base-off“-Konfiguration ermöglicht den Wechsel in der Redox-Chemie, die für die Enzymaktivität benötigt wird.

Zellulärer Transport und Metabolismus der Cobalamine

- ◆ Alle Cbl-Formen müssen als erstes die intestinale Barriere und dann die Zellmembran passieren, bevor sie zu den Cbl-abhängigen Enzymen gelangen (Abb. 1). Für die meisten Studien zur Cbl-Aufnahme wurde CNCbl verwendet. Falls die Cbl-abhängigen Coenzyme wirksam aufgenommen werden und beim Transport und dem intrazellulären Prozess unverändert bleiben, können sie als einsatzbereite Coenzyme betrachtet werden. Eine mögliche überlegene Rolle der Cbl-Coenzyme scheint hingegen weniger plausibel, wenn alle Cbl-Formen dem üblichen Weg der zellulären Redoxkette folgen.

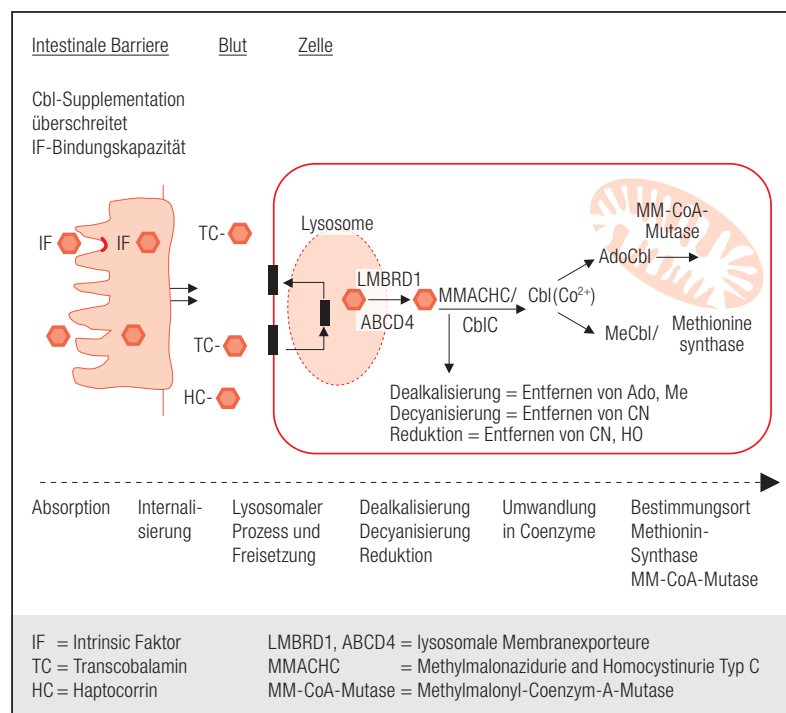


Abb. 1: Transport von Cbl vom Darm über das Blut in die Zellen (veränderte Darstellung nach Obeid et al. 2015)

Cobalamintransport und Internalisierung in die Zelle

- ◆ Die Freisetzung von Cbl aus der Nahrung oder Supplementen in die Zelle geschieht sukzessive mithilfe extrazellulärer Transportproteine. Für den Transport beim Menschen sind es die Transporter HC, IF und TC. Die Bindungskonstanz von CNCbl oder HOCbl mit dem Transporter ist mit der von AdoCbl vergleichbar. Gebundenes Nahrungscobalamin wird im Magen durch Magensäure und Pepsin freigesetzt und an HC gebunden. Der Cbl-HC-Komplex gelangt in den Dünndarm, wo Trypsin und andere intestinale Proteasen HC abspalten, damit sich CBL an den IF binden kann. Inaktive Corrinoiden, also Cbl-Analoga, bleiben hingegen an HC gebunden. Im terminalen Ileum wird der

Cbl-IF-Komplex mithilfe von Cubillin, einem Bestandteil des Rezeptors Cubam, in die Enterozyten aufgenommen. In den Zellen wird Cubam recycelt, IF freigesetzt und Cbl mithilfe des Transportproteins MRP1 ans Blut abgegeben. Die IF-abhängige intestinale Resorption ist auf eine Menge von 1,5 µg pro Mahlzeit aufgrund der limitierten Menge an Cubam begrenzt. Im Blut wird Cbl an TC gebunden zu den Zellen transportiert. In die Zellen gelangt es mithilfe des TC-Rezeptors CD 320 oder durch Filtration in der Niere.

Transport von Cobalamin in die Zelle und Formation von Ado- und Methylcobalamin

◆ Gebunden an den TC-Rezeptor CD320 gelangt der TC-Cbl-Komplex ins Lysosom, wobei der TC-Rezeptor an der Zelloberfläche recycelt wird, während Cbl nach Proteolyse des TC freigesetzt wird. Cbl wird dann mit den membrangebundenen Proteinen LMBD1 (Lysosomal cobalamin transport escort protein) oder ABCD4 (ATP binding cassette Unterfamilie D) ins Cytosol transportiert. Der lysosomale Prozess ist unter physiologischen Bedingungen für die anschließende Produktion von Cbl-Cofaktoren verbindlich. Pharmakologische Dosierungen wurden nicht getestet.

- ◆ Im Cytosol bindet sich Cbl an das cytosolische Chaperon MMACHC, das verantwortlich ist für:
 - die flavinabhängige Decyanisierung von $\text{CN-Co}^{3+}\text{Cbl}$ zu Co^{2+}Cbl ,
 - die glutathionabhängige Dealkalisierung von MeCbl und AdoCbl zu $\text{Co}^{2+/1+}\text{Cbl}$ und
 - die glutathionabhängige Decyanisierung von CNCbl oder Reduktion von HOCbl unter anaeroben Bedingungen (Abb. 2).

Die derzeitige Evidenz legt nahe, dass bei Supplementation CNCbl, MeCbl und AdoCbl denselben Weg via MMACHC zum Zwischenprodukt Co^{2+}Cbl gehen, während HOCbl nach Erreichen des Cytosols mittels MSR (Methionin-Synthase-Reduktase)-abhängigem Enzym oder durch spontane Reduktion umgewandelt wird.

- ◆ Für die biologische Funktion des Vitamin B₁₂ ist das Entfernen des unteren Liganden essentiell. Mithilfe von MMADHC (Methylmalonazidurie and Homocystinurie Typ D) gelangt das reduzierte Co^{2+}Cbl entweder ins Zytoplasma, wo es zu MeCbl synthetisiert wird, oder es gelangt ins Mitochondrium, wo es zu AdoCbl umgewandelt wird.
- ◆ **Da CNBl, MeCbl und AdoCbl intrazellulär ein ähnliches Schicksal haben, ist es sehr unwahrscheinlich, dass weder MeCbl noch AdoCbl CNCbl überlegen wären.** HOCbl könnte überlegen sein.

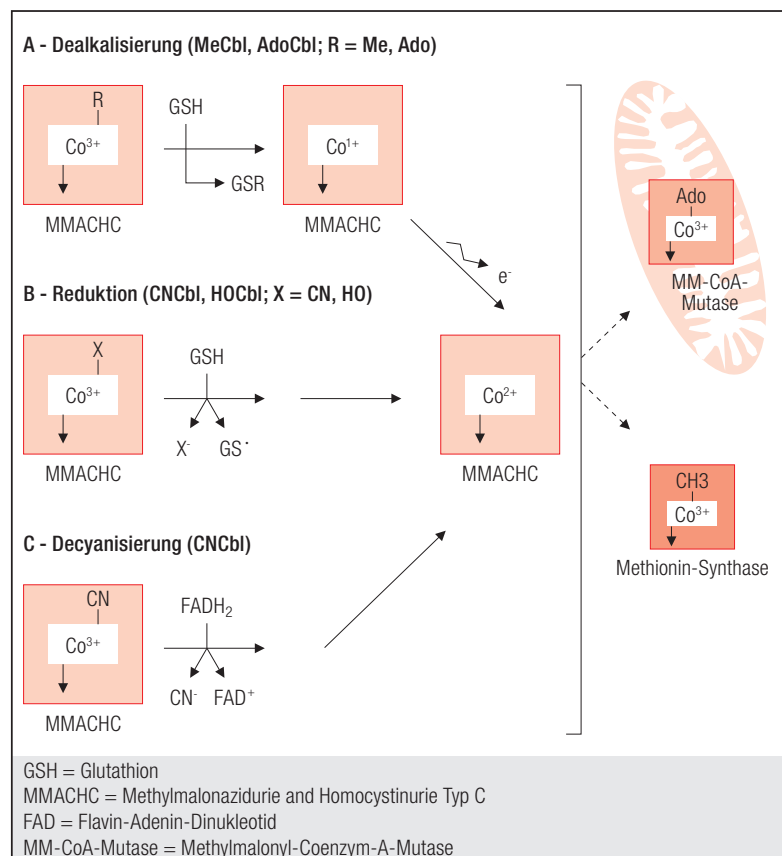


Abb. 2: Verstoffwechslung der Cbl-Liganden bei allen Cbl-Formen im Cytosol (veränderte Darstellung nach Obeid et al. 2015)

Cobalaminformen und Aktivierung von Cbl-abhängigen Enzymen

- ◆ Der untere Ligand von Cbl spielt eine große Rolle bei der Aktivierung der Cbl-abhängigen Enzyme. Methionin-Synthase und Methylmalonyl-CoA-Mutase (MUT) benötigen MeCbl und AdoCbl. HOCbl scheint die Aktivität beider Enzyme zu induzieren.
- ◆ Die Aktivität der Methionin-Synthase im Zellextrakt wird durch HOCbl und MeCbl angeregt, zu einem geringeren Grad auch durch CNCbl. HOCbl zeigt in vitro die schnellste Induktion im Vergleich zu CNCbl und MeCbl. Liegt die Inkubationszeit über 60 Minuten, zeigen alle drei Formen eine ähnliche Methioninbildung als Zeichen der Methionin-Synthase-Aktivität.

Evidenz der potenziellen Effektivität der unterschiedlichen Cbl-Formen

- ◆ CNCbl und HOCbl werden in Europa und den USA zur Prävention oder Therapie von Cbl-

Mangel verwendet. In Asien kommt MeCbl zum Einsatz, wohingegen AdoCbl zwar verfügbar, aber weniger populär ist.

Unter Berücksichtigung klinischer Studien als Nachweis der Effektivität in der Therapie gibt es demzufolge keine Evidenz, um eine der Cbl-Formen als eine bessere Option zur Prävention oder Therapie zu empfehlen.

Alle veröffentlichten klinischen Studien zu CNCbl, HOCbl oder MECbl sind nicht-kontrolliert offene (nicht einfach oder doppelt blinde) Studien, die therapeutische Dosierungen von 500 bis 2500 µg Cbl verwenden. Zu AdoCbl liegen nicht ausreichend Studien vor.

- ◆ In klinischen Studien reduzierte **HOCbl** (400 µg i.m.) die Konzentrationen an Methylmalonsäure und Homocystein. In einer Konzentration von 200 µg i.m. verblieb HOCbl länger im Plasma und wurde weniger im Urin ausgeschieden als eine vergleichbare Dosis von CNCbl. In Zellkulturen zeigte HOCbl eine höhere Konversionsrate in die Coenzyme als CNCbl. Diese Effekte lassen sich im Vergleich zu CNCbl durch eine schnellere Reduktion von HOCbl und der unspezifischen Bindung an Proteine wie Albumine erklären. Die Bindung an Albumin erhöht die Retention im Plasma und erzeugt ein verwendbares Vitaminreservoir. Die Verwendung dieser Cbl-Form ist in zwei Ausnahmefällen vorteilhaft:

1. bei einer Cyanidvergiftung und
2. bei seltenen genetischen Defekten des Cbl-Stoffwechsels, bei welchen MeCbl und AdoCbl nicht in der Zelle gebildet werden können.

Allerdings dürfte sich die geringe Stabilität von HOCbl wenig für die orale Supplementation eignen.

- ◆ Wie HOCbl auch wird **CNCbl** an Cbl-Transporter gebunden und übt die gleichen zu erwartenden Effekte auf metabolischer und klinischer Ebene aus. Die orale Supplementation geringer Dosierungen (3x9 µg/d) lässt diese Form im Blut erscheinen, erhöht aber auch das an TC-gebundene MeCbl, was auf eine Umwandlung in den Cofaktor MeCbl direkt nach der Supplementation hindeutet. CNCbl, das nicht an Cbl-bindende Proteine gebunden wird, wird rasch über die Niere ausgeschieden.

- ◆ Die Supplementierung mit MeCbl (25.000 µg/d für 10 Tage, dann 25.000 µg/Monat i.v.) zeigte klinische Erfolge, verringerte die Homocystein-Konzentration bei einer Dosierung von 1000 µg/d i.m. für drei Wochen und erhöhte die Aktivität der Methyltransferase in vitro. Die Rolle von MeCbl als Methylgruppendonator in vivo ist ungewiss. Nicht an spezifische Cbl-bindende Proteine gebundenes MeCbl wird in der Niere frei gefiltert. Demnach haben MeCbl und CNCbl ähnliche Turnoverraten im Blutplasma.

- ◆ **Zusammengefasst bedeutet dies, dass sich HOCbl evtl. besser für die parenterale Behandlung eignen könnte. MeCbl und CNCbl zeigen sehr ähnliche biologische Effekte, aber CNCbl ist bei der oralen Behandlung aufgrund seiner Stabilität scheinbar überlegen.**

Schlussfolgerungen

- ◆ Bei der Dosierung, die üblicherweise für Therapie und Prävention des Cbl-Mangels verwendet wird, scheinen alle Cbl-Formen absorbiert und in die Zellen aufgenommen zu werden. Alle Formen folgen dem intrazellulären Stoffwechsel, der sämtliche Varianten in die Zwischenstufe Co^{2+}Cbl umwandelt, die dann wiederum in die funktionalen Coenzyme MeCbl und AdoCbl überführt wird. MMACHC hat eine deutliche Spezifität zu den unterschiedlichen Cbl-Formen und entfernt den unteren Liganden, wodurch die Coenzyme MeCbl und AdoCbl aus allen verfügbaren Cbl-Formen synthetisiert werden können.
- ◆ Bislang gibt es keinen ausreichenden Beweis dafür, dass die Vorteile der Verwendung von MeCbl oder AdoCbl gegenüber denen von CNCbl oder HOCbl überwiegen hinsichtlich Bioverfügbarkeit, biochemischen Wirkungen oder klinischen Effektivität.
- ◆ Auch wenn HOCbl möglicherweise ein vorteilhafter Vorgänger der Cofaktoren ist, CNCbl ist die stabilere und günstigere Form, die sich scheinbar am besten für die orale Supplementation und parenterale Behandlung eignet.