

Matthias Heinrich Mohr  
Dr. med.

**Aminosäure-Konzentrationen im Cortex frontalis, Cortex entorhinalis, Cortex temporalis und Hippocampus anterior adulter und seneszenten Ratten:**

- **Einfluß von Brompyruvat-induzierter Hemmung des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex**
- **Einfluß von Phosphatidylserin**
- **Einfluß von Alter**

Geboren am 04.08.1965 in Speyer  
Reifeprüfung Juni 1985 in Speyer  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1987 – SS 1994  
Physikum am 14.03.1989 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Pforzheim/ Rüti (Schweiz)  
Staatsexamen am 05.05.1994  
an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. S. Hoyer

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, altersabhängige regionale Veränderungen der Aminosäure (AS)-Konzentrationen im ZNS aufzuklären, zu untersuchen, inwieweit Störungen der Glukoseutilisation im Hirnstoffwechsel darauf eine Auswirkung haben, und – im Rahmen einer Pilotstudie – den Einfluss von Phosphatidylserin (Phser) zu messen. Dazu wurden 112 Wistar-Ratten (52 Wochen alt) randomisiert und in 3 Altersgruppen aufgeteilt. Jedes Versuchstier erhielt initial eine stereotaktische intracerebroventrikuläre (icv) Injektion von Brompyruvat (BP) oder künstlichem Liquor. Zwei Altersgruppen (64 und 104 Wochen) erhielten nach 6 Wochen eine zweite icv Injektion.

Brompyruvat gilt als kompetitiver Hemmer des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes (PDHc). Dabei handelt es sich um das Schlüsselenzym an der Schnittstelle zwischen Glykolyse und Zitronensäurezyklus bzw. Acetylcholinsynthese, so dass von Auswirkungen auf den AS-Stoffwechsel auszugehen ist. Weiter konnte bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie z.B. der Demenz vom Alzheimer Typ (DAT), ein Aktivitätsverlust des PDHc gesehen werden. Bis zum finalen Experiment nach der 58., 64. und 104. Woche erhielt ein Teil der Tiere jeder Versuchstiergruppe mit Phser angereichertes Trinkwasser. Phser ist ein physiologisches membranständiges Phospholipid, das u. a. dem Erhalt der Zellmembran dient.

Im finalen Experiment wurde mit Pancuronium relaxiert, maschinell beatmet und eine Narkose mit 0,5% Halothan und einem Stickoxydul/Sauerstoffgemisch (70:30) aufrechterhalten. Nach 30 minütigem steady state von Normoxämie, Normothermie, arterieller Normotonie und Normokapnie wurde das Gehirn in situ mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Ohne Unterbrechung der Kühlkette erfolgte im Kryostat die Präparation des Hippocampus anterior, Cortex frontalis, Cortex entorhinalis und Cortex temporalis, anschließend die Gewebe-aufarbeitung und Messung der AS im HPLC (high pressure liquid chromatograph).

Es ergaben sich folgende signifikante Ergebnisse für die Morphologie, das physiologische Altern, die BP-Schädigung und die Phser-Therapie:

Morphologisch zeigten sich atrophische Prozesse fast ausschließlich an seneszenten Hirnen nach BP-Gabe. Nicht mit Phser behandelte Tiere waren 4-fach häufiger betroffen.

BP führte im Hippocampus anterior seneszenter Tiere zu einer 14%igen Glutamat-Konzentrationsminderung. Im Gegensatz dazu bewirkte BP im entorhinalen Cortex in der Seneszenz für Glutamat eine mit dem Alterseffekt synergistische 37%ige Konzentrationserhöhung. Für Citrullin ergab sich eine 37%ige Senkung. Bei gleichbleibend hohem AS-Pool ist von unveränderten Harnstoffkonzentrationen auszugehen, bei dessen Abbau Citrullin entsteht. Möglicherweise besteht eine durch Energiemangel bedingte Störung des Harnstoffzyklus.

In der adulten 64 Wochen Gruppe führte BP im entorhinalen Cortex zu einer 30%igen Minderung der Threoninkonzentration, einer glukoplastischen AS.

Die BP induzierten Veränderungen lassen sich somit lediglich in zwei der vier untersuchten Arealen nachweisen, dabei nur in den beiden älteren Gruppen (insbesondere der seneszenten) und ohne den AS-Stoffwechsel richtungsweisend zu beeinträchtigen. Verantwortlich dafür ist am ehesten die Reversibilität der kompetitiven Hemmung.

Im Rahmen einer Pilotstudie wurde der physiologische Membranbaustein Phosphatidylserin, ein Phospholipid, oral verabreicht. Es ist bekannt, dass katabole Veränderungen im Alter membranständige Phospholipide reduzieren und auch die Membranpermeabilität/-viskosität dadurch beeinträchtigt wird, bis hin zum Zelltod. Eine vermehrte Glukosebereitstellung unter Phser bei BP-behandelten Tieren ist ebenfalls beschrieben. Auffällig war eine Abnahme von inhibitorischen AS (IAS), d. h. GABA-/Glyzin-Pool, im Cortex frontalis der 64 und 104 Wochen Gruppe, weiter eine Konzentrationserhöhung von Threonin, Taurin, exzitatorischen AS (EAS), d. h. Glutamat-/Aspartat-Pool, und  $\alpha$ -Amino-N (gesamter AS-Pool) nach BP-Gabe.

Bei verminderter Glukoseutilisation im Alter und zugleich zellschädigenden Effekten bei dauerhafter Erhöhung der Glukosekonzentration, wie z. B. die Bildung von AGE (advanced glycation endproducts), kann aus den Messungen keine Indikation zur Applikation von Phosphatidylserin abgeleitet werden.

Bei weitem am deutlichsten sind die Alterseffekte herauszustellen. EAS waren bei seneszenten Tieren in den vulnerablen Arealen Hippocampus und entorhinaler Cortex erhöht, die auch in frühen Stadien der DAT betroffen sind. Verstärkt wird dieser Effekt durch eine Reduktion der IAS im Hippocampus. Der gesamte AS-Pool ist altersabhängig ebenfalls erhöht, wobei am ehesten an proteolytische Prozesse gedacht werden muss, aber auch an eine verminderte Aktivität der Protein-Synthese. Außerdem bestätigt der altersabhängig steigende EAS:IAS Quotient für vulnerable Hirnareale die zunehmende Exzitotoxizität.

Die vorliegende Arbeit zeigt altersabhängige Veränderungen im Gehirn auf der Ebene der Aminosäuren, wie sie auch bei neurodegenerativen Erkrankungen, insbesondere der DAT zu sehen sind. Sie könnte dazu dienen, sowohl den Alterungsprozess als auch neurodegenerative Veränderungen besser zu verstehen.