

Cornelia Sabine Seel

Dr. med.

Bedeutung des Glutaminstoffwechsels für die Pathogenese der chronisch entzündlichen Darmerkrankung – Untersuchungen in einem Tiermodell

Geboren am 23.04.1975 in Sinsheim

Staatsexamen am 15.11.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. B. Sido

Die Aminosäure Glutamin ist die Hauptenergiequelle der Epithelzellen des Dünndarms und essentiell für die Zellproliferation sowie die funktionelle und strukturelle Integrität der Mucosa. Beim Morbus Crohn (MC), einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung (CED), liegt eine schwere Störung des Glutaminmetabolismus im Darm (v.a. im Ileum) vor. Unabhängig vom Vorliegen einer intestinalen Entzündung sind die Glutaminspiegel in der Mucosa erniedrigt und die Aktivität der Glutaminase, dem Schlüsselenzym des Glutaminmetabolismus, ist selektiv im Ileum vermindert. Außerdem kommt es beim MC durch die Freisetzung von toxischen Sauerstoffradikalen aus infiltrierenden Granulozyten und Makrophagen zu einem oxidativen Gewebeschaden im entzündeten Darm. Die Konzentration von reduziertem Glutathion (GSH), dem bedeutendsten intrazellulären Antioxidans, ist beim MC in der Darmmucosa unabhängig von der Entzündung in Folge einer Verminderung der Aktivität der γ -Glutamyl-Cystein-Synthetase (γ GCS), dem Schrittmacherenzym der GSH-Synthese, erniedrigt. Daraus resultiert eine eingeschränkte antioxidative Kapazität. Zwischen dem Glutathion- und Glutaminstoffwechsel besteht ein Zusammenhang darin, dass Glutamin nach Umwandlung in Glutamat durch die Glutaminase als indirektes Substrat in die GSH-Synthese eingehen kann.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, welche Rolle die auch im nicht entzündeten Darm vorliegenden Veränderungen im Glutathion- und Glutaminstoffwechsel für die Chronifizierung der Entzündung bei der CED spielen und ob eine akute Entzündung sekundär zu einer Veränderung dieser protektiven Faktoren führt. Dazu wurde bei Ratten durch die subkutane Injektion von Indometacin eine dem humanen MC klinisch, histologisch

und pathophysiologisch ähnliche Ileitis induziert. Das akute bzw. chronische Entzündungsstadium wurde anhand von Gewichtsverlauf, Darmgewicht, makroskopischem Entzündungsscore sowie biochemischen Parametern (Malondialdehyd, Myeloperoxidase) definiert. Glutathionkonzentration (reduzierter und oxidiertes Anteil), Enzyme des Glutathionstoffwechsels (γ GCS, Glutathion-S-Transferase) sowie die Glutaminaseaktivität wurden in verschiedenen Darmabschnitten bestimmt. Durch den Einsatz spezifischer Enzymhemmer konnten die Glutathionsynthese sowie die Glutaminaseaktivität gezielt gehemmt werden. Außerdem wurde ein therapeutisches Konzept mit dem Einsatz von Glutamin entwickelt.

Im Modell der chronischen Ileitis war die Aktivität der Glutaminase nur lokal in dem von der Entzündung betroffenen proximalen Ileum erniedrigt. Die ablaufende Entzündung hatte keine sekundären Auswirkungen auf die Glutaminaseaktivität in nicht entzündeten Darmabschnitten. Sind diese Daten auf den humanen MC übertragbar, dann liegt nahe, dass die verminderte Glutaminaseaktivität im nicht entzündeten Ileum von Patienten mit MC kein Epiphänomen einer anderswo im Darm ablaufenden Entzündung darstellt. Ihr kommt möglicherweise eine essentielle Bedeutung für die Pathogenese des MC zu. Außerdem führte die temporäre Hemmung der Glutaminase zum Zeitpunkt der Induktion einer akuten Entzündung im Tierversuch zu einer Verstärkung und Chronifizierung der Entzündung.

Bei den Tieren mit einer chronischen Entzündung war die mucosale Glutathionkonzentration in Übereinstimmung mit vorangegangenen Untersuchungen an Patienten mit MC sowohl in entzündeten als auch in nicht entzündeten Darmabschnitten erniedrigt. Die Ursache dafür lag im Tiermodell nicht in einer Verminderung der Aktivität der γ GCS. Eine segmentale Darmentzündung scheint daher auch über systemische Effekte der Entzündung auf die Verminderung der Glutathionkonzentration im gesamten Darm Auswirkungen zu haben. Da beim MC in der Darmmucosa neben erniedrigten Glutaminspiegeln eine Korrelation zwischen Glutaminkonzentration und Glutathionspiegel gefunden wurde, könnte Glutamin im Darm limitierend für die Glutathionsynthese sein. Darüber hinaus wurde im Indometacinmodell die Gewebestruktur bzw. die Regenerationsfähigkeit der Mucosa im Gegensatz zur Hemmung der Glutaminase nicht negativ beeinflusst, wenn zum Zeitpunkt der Auslösung einer akuten Entzündung durch die Verminderung der GSH-Synthese ein temporärer Glutathionmangel vorlag.

Deshalb erschien der therapeutische Einsatz von Glutamin bei der chronischen Ileitis im Tiermodell am sinnvollsten. Durch die orale Glutaminsupplementation konnte die makroskopische Ausbildung einer Entzündung und morphologischen Gewebeschädigung vollständig verhindert werden. Die Glutaminaseaktivität nahm in allen Darmabschnitten zu. Auch die Glutathionspiegel und die intestinale Redoxbalance normalisierten sich im gesamten Darm. Allerdings führte die Glutamingabe durch eine fortgesetzte Immunstimulation von neutrophilen Granulozyten zu einer Potenzierung der Lipidperoxidation im Colon, das nicht Glutamin sondern Butyrat als Energiequelle nutzt. Folglich könnte ein Entzündungsprozess im Colon durch die Wirkung von Glutamin verstärkt werden. Daher erscheint der Einsatz von Glutamin bei der CED v.a. dann sinnvoll, wenn das Colon nicht von der Entzündung betroffen ist.