

Untersuchung des Arachidonsäure-Metaboloms in humanem Plasma, Liquor und Urin

Autor: Julia Doris Menke
Institut / Klinik: Klinik für Anästhesiologie, Operative Intensivmedizin und Schmerzmedizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. M. Revermann

Die Entdeckung unzähliger Metaboliten mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PUFAs), darunter auch Prostanoiden, unter anderem mittels Tandem-Massenspektrometrie im Laufe des letzten Jahrhunderts gilt als Meilenstein für die medikamentöse Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen. Die gewonnenen Erkenntnisse über die (patho-)physiologischen Eigenschaften und Effekte der PUFA-Metaboliten auf den menschlichen Körper sowie ihrer Detektionsmöglichkeit bilden das Fundament für diese Arbeit.

In zwei voneinander unabhängigen Studien galt es, zunächst mithilfe einer gesunden männlichen Population das geeignetste Blutentnahmeröhrchen für die Analyse der PUFA-Metaboliten zu finden und anschließend Normalwerte dieser Substanzen bei diesen Männern und bei prä- sowie postmenopausalen Frauen im Plasma und Liquor zu generieren (AM-Studie), bevor in einer zweiten Studie die Auswirkungen einer einmaligen intravenösen Infusion von 500 mg Acetylsalicylsäure (ASS) gegenüber eines Placebos in Plasma und Urin über einen Zeitraum von 24 Stunden untersucht wurden (ASS-Studie). Diese Studien sollen als Grundlage für weitere Untersuchungen mit Patienten dienen, die an verschiedenen kardiovaskulären und neurologisch/neurochirurgischen Erkrankungen wie Myokardinfarkt und Subarachnoidalblutung leiden, um mögliche krankheitsabhängige Veränderungen in der PUFA-Derivatkonzentration zu erkennen und gezielt intervenieren zu können.

Im Rahmen der AM-Studie wurden insgesamt 66 Metaboliten zunächst nur bei männlichen Probanden, um eine mögliche hormonelle Einflussnahme zu minimieren, untersucht. Davon zeigte 54 keinen Konzentrationsunterschied zwischen K3-EDTA- und Lithium-Heparin-Plasma. PGE₂, LXA₄, 8,9-DHET, 11,12-EET, 11,12-DHET, 5-, 8-, 12- und 15S-HETE, PGF_{1α}, 9-HpODE, 13-HpODE und 12-HEPE konnten dabei höher in Lithium-Heparin- als in EDTA-Plasma quantifiziert werden, wohingegen 20-COOH-LtB₄ und 9-OxoODE eine höhere Konzentration im EDTA-Plasma aufwiesen. Da die Chelatierung divalenter Kationen durch EDTA gut bekannt ist, die Interaktionen von Heparin mit in den Stoffwechselwegen der PUFAs beteiligten Enzymen jedoch noch nicht ausreichend geklärt ist, entschieden wir uns für die Verwendung des EDTA-Röhrchens und dies insbesondere angesichts des Umstandes einer deutlich geringeren Blutabnahmemenge bei der Verwendung eines EDTA-Röhrchens. Zur Erforschung eines geschlechtsabhängigen Einflusses auf die Aktivität von PUFA-Derivaten wurden für die AM-Studie drei Gruppen gebildet: eine Männergruppe (n=15), eine prämenopausale Frauengruppe (n=11; Alter <48 Jahre, regelmäßige Menstruation) sowie eine postmenopausale Frauengruppe (n=6; Alter >50 Jahre, letzte Menstruation vor mehr als 2 Jahren).

Nach Auswertung der Studienergebnisse konnten wir feststellen, dass postmenopausale Frauen eine höhere Plasmakonzentration von Linolsäure aufwiesen als prämenopausale Frauen. Dieser Unterschied war jedoch in nachfolgenden Linolsäure-Metabolisierungswegen nicht mehr erkennbar. Dies deutet auf eine unter Umständen hormonabhängige enzymatische Kompensation hin, die zur Aufrechterhaltung der Homöostase dienen würde.

Die meisten PUFAs inklusive ihrer Metaboliten waren im Plasma deutlich höher konzentriert als im Liquor; 9- und 13-HODE bildeten hiervon jedoch Ausnahmen. Der Nachweis einiger Abkömmlinge der drei Haupt-PUFAs Arachidonsäure, Linolsäure und α -Linolensäure gelang nur im Plasma und/oder Liquor der männlichen Probanden, nicht aber in den Proben der weiblichen Studienteilnehmerinnen. Hier wäre es interessant, dies anhand eines größeren Probandenkollektivs zu bestätigen und nach einer Ursache zu suchen. Womöglich lagen die zu untersuchenden Metaboliten unterhalb der Nachweisgrenze.

Um eine mögliche hormonelle Beeinflussung auszuschließen, wie in der AM-Studie bei einigen Metaboliten anzunehmen ist, wurden ausschließlich Männer für die ASS-Studie rekrutiert. Hier wurden unmittelbar vor, sowie 1, 6, 12 und 24 Stunden nach intravenöser Gabe von 500 mg ASS bzw. 100 ml NaCl (Placebo) die Plasma- und Urinkonzentration derselben PUFA-Metaboliten wie in der AM-Studie gemessen. Hierbei kristallisierten sich im Tagesverlauf erkennbare Schwankungen in der Plasmakonzentration der PUFAs und ihrer Derivate in beiden Gruppen heraus. Während TxB₂ schon ab einer Stunde nach ASS-Infusion in der Verumgruppe nicht mehr detektierbar war, zeigte der Großteil der untersuchten Substanzen keine solch eindeutig auf ASS zurückzuführende Veränderung. Nur

wenige Metaboliten, darunter einige Prostaglandine und Linolsäurederivate wie 9,10-DiHOME, waren in ausreichender, wenn auch oft schwankender Konzentration, im Urin messbar. Auch wenn es bei einigen PUFA-Derivaten offenbar geschlechtsabhängige Unterschiede gibt und sich die einmalige Verabreichung von ASS nicht auf alle PUFA-Metabolisierungen auswirkt, liefert diese Arbeit dennoch einen wertvollen Beitrag zur Generierung von Normalwerten der Plasma- und Liquorkonzentration vieler PUFA-Metaboliten, die in weiterführenden Studien als Grundlage zur Einordnung und Interpretation von mannigfaltigen pathophysiologischen Veränderungen und Konzentrationsprüfungen genutzt werden kann. Ein erklärtes Ziel dieser Studien war die Gewinnung von grundlegenden Ergebnissen, die als Basis für die Erkennung von krankhaften Veränderungen herangezogen werden können. So wird die vorliegende Arbeit zur Untersuchung des Arachidonsäure-Metaboloms als Grundlage für das Erkennen dieser vielseitigen Substanzen bei kranken Patienten dienen.