



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Tierexperimentelle Studie zur protektiven Wirkung von Pyruvat auf die Paraoxon-induzierte Hemmung der Cholinesterase A- und B-Aktivität

Autor: Vanessa Ewald
Institut / Klinik: Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. G. Petroianu

Die Verwendung von Organophosphaten(OP), vor allem als Insektizide und Kampfgase, ist auch heute noch verbreitet. Als Inhibitoren der Serinhydrolasen und -proteasen hemmen OP hauptsächlich die Cholin-esterase-A(ChE-A) und -B(ChE-B). Oxime sind die einzigen zur Zeit verfügbaren Enzym-reaktivatoren, jedoch sind sie in der Therapie der Organophosphatintoxikation bei Weitem nicht zufriedenstellend. Von uns bereits veröffentlichte Studien haben gezeigt, dass L-Laktat *in vivo* in der Lage ist, die Paraoxon(POX)-induzierte Hemmung der Cholinesterase-A zu reduzieren.

Ziel der hier vorgelegten Studie war zum einen, im *in vivo* Versuch die Frage zu klären, ob alleinig L-Laktat oder ihm verwandte Substanzen in der Lage sind, einen protektiven Effekt auf die Cholinesterasen auszuüben. In einer tierexperimentellen Studie am Göttinger Miniaturschwein sollte überprüft werden, ob die Gabe von 10g intravenös appliziertem Pyruvat die Cholinesterasen nach POX-Exposition schützen und/oder reaktivieren kann.

Die Schweine wurden symptomatisch unter Narkosebedingungen behandelt. Eine Gruppe von sechs Tieren erhielt nur POX in der Dosierung von $1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ KG}^{-1}$ (historische Kontrolltiere), der anderen Gruppe mit ebenfalls sechs Tieren wurde parallel zur Giftexposition 10 g Pyruvat intravenös appliziert (Pyruvattiere). In regelmäßigen Abständen wurde den Tieren Blut abgenommen und die ChE-A- und -B-Aktivität im Plasma photometrisch bestimmt. Die Studie zeigte, dass die ChE-A- und -B-Aktivität im Serum sowohl nach i.v.-Applikation von Paraoxon in der Dosierung von $1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ KG}^{-1}$ als auch nach zusätzlicher Infusion von 10g Pyruvat initial nahezu komplett gehemmt wurde. Bei den Pyruvattieren kam es ca. acht Stunden nach Para-oxonexposition zu einer statistisch signifikanten Steigerung der ChE-A-Aktivität im Vergleich zu den Kontrolltieren, welche sich über den gesamten verbleibenden Beobachtungszeitraum fortsetzte. Bei der ChE-B-Aktivität der Pyruvattiere beobachtete man unmittelbar nach Paraoxongabe ebenfalls eine klinisch möglicherweise relevante, aber statistisch nicht signifikante Steigerung der Enzymaktivität im Vergleich zu den Kontrolltieren, welche sich ebenfalls bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes fortsetzte. Bei den Pyruvattieren regenerierte sich die ChE-A sowie die ChE-B wieder so weit, dass bei der letzten Blutabnahme wieder annähernd der Baseline-Wert der entsprechenden Enzymsaktivität erreicht wurde.

Aufgrund verschiedener Verlaufsparemeter, wie beispielsweise dem Blutlaktatspiegel, kamen wir zu der Annahme, dass Pyruvat selbst keinen protektiven Effekt auf die Cholinesterasen besitzt. Viel mehr ist davon auszugehen, dass erst durch die Umwandlung von Pyruvat zu L-Laktat die Enzymaktivität gesteigert werden kann. Zum anderen sollte der *in vivo* gesehene, protektive Effekt von Pyruvat auf die Cholinesterasen -unter Einfluss von POX- in einer laborchemischen *in vitro* Studie quantifiziert werden. Dies wurde mit dem Blutplasma eines gesunden Probanden photometrisch bestimmt. Die Versuchsreihen wurden mit verschiedenen Pox- respektive Pyruvat-Konzentrationen durchgeführt. Der Ausschluss möglicher Effekte auf die zu messende Enzymaktivität durch unspezifische Säurewirkung von Pyruvat erfolgte mittels zusätzlich durchgeführter Versuche mit Salzsäure als pH-Pyruvat-Äquivalent. Im physiologischen pH-Bereich verliefen die Pyruvat- sowie die Salzsäure-Kurven deckungsgleich, wichen jedoch im unphysiologischen pH-Bereich, d.h. im Bereich hoher Pyruvatkonzentrationen, voneinander ab. Diese Ergebnisse lassen keine Bestätigung der *in vivo* beobachteten protektiven Effekte von Pyruvat auf die Aktivität der Cholinesterasen zu. Abschließend ist zu bemerken, dass die herkömmliche photometrische Bestimmung der ChE-Aktivität sich aufgrund fehlender Möglichkeiten, die Pufferkapazitäten des lebenden Organismus nachzuahmen, problematisch gestaltet und somit eine unspezifische Säurewirkung als Störfaktor auf die Enzymbestimmung nicht ausgeschlossen werden kann.

Des Weiteren wären zusätzliche *in vivo* Versuche wünschenswert. Möglicherweise könnte eine Kombination aus Pyruvat und L-Laktat, sowie höhere Konzentrationen der verwendeten Substanzen, eine bessere und schneller einsetzende Aktivitätssteigerung der Cholinesterasen bewirken.