

Nitrosativer Stress – ein komplexes neuro-pathologisches Phänomen

Pathophysiologie, Labordiagnostik und natürliche Therapien

Dr. rer. nat. Annemarie
Neuner-Kritikos

Der Begriff „nitrosativer Stress“ (oder „Nitro-stress“) wird in den letzten Jahren dem des oxidativen Stresses an die Seite gestellt. Es hat sich gezeigt, dass viele Pathologien, die bisher dem oxidativen Stress zugeordnet wurden, zumindest teilweise durch gesteigerte Produktion von Stickoxid zu erklären sind. Zum anderen wurde demonstriert, dass die destruktiven Eigenschaften des Stickoxids nicht, wie längere Zeit angenommen, von diesem alleine stammen, sondern vielmehr durch eines seiner Folgeprodukte, das Peroxynitrit (ONOO^-), vermittelt wird. Das hochtoxische Peroxynitrit entsteht durch die Reaktion von Superoxid und Stickoxid und ist aufgrund seines hohen Redoxpotentials wesentlich aggressiver als seine Vorläufermoleküle.

Stickoxid (NO) ist, wenn es im Übermaß produziert wird, auch trotzdem noch ein Oxidans und Radikal. In niedrigen Konzentrationen jedoch ist es ein wichtiger Neurotransmitter, der mit der Pathophysiologie von Depression, Ängsten, Epilepsie und Schizophrenie verbunden ist. NO wird unter physiologischen Bedingungen aus L-Arginin durch die Stickoxid-Synthase synthetisiert. Es gibt mehrere Isoformen: Die neuronal nNOS, die endotheliale eNOS und die induzierbare iNOS. Die nNOS und eNOS sind Enzyme, die über einen Anstieg von intrazellulärem Ca^{++} angeschaltet werden. Die iNOS wird Ca^{++} -unabhängig über inflammatorische Zellen exprimiert, die durch endo-

toxische oder proinflammatorische Zytokine induziert werden. Inflammation und neuronale Excitation führen zu einem Anstieg von intrazellulärem Ca^{++} und dürften so die Produktion von NO verstärken. In niedriger Menge agiert NO als second messenger im Prozess der Dopamin- und Noradrenalin-Ausschüttung. NO beeinflusst sexuelles und aggressives Verhalten und ist über den Syntheseweg an Angstverhalten, Entzündungsgeschehen und Depression, ausgelöst durch Interferon α , beteiligt.

Bereits ein vorübergehend erhöhte NO-Level verursacht Nitrierung und Hypernitrosylierung von Aminosäuren und Proteinen, z. B. Nitrotyrosin, Nitro-Tryptophan oder Nitro-Arginin. Glutamat und seine Rezeptoren spielen hier eine wichtige Rolle. Als Antwort auf eine Aktivierung der Glutamat-Rezeptoren (NMDA, AMPA oder Kainat) öffnen sich Ca^{++} -Kanäle, wodurch die intrazelluläre Ca^{++} -Konzentration ansteigt, die Stickoxid-Synthetase wird aktiviert, was zu einer Erhöhung der Stickoxidbildung aus der Arginin-Konversion führt. NO ist ein freies Radikal, das in Kombination mit Superoxid das sehr reaktive Peroxynitrit generiert. Viele schädigende Wirkungen von NO sind auf Peroxynitrit zurückzuführen, da es in der Lage ist, nicht nur Proteinreste zu nitrifizieren und zu oxidieren, sondern auch Katecholamine, DNA oder Lipide, was die zelluläre Homöostase nachhaltig beeinflusst. Antidepressiva-ähnliche Effekte können im Versuch durch die Hemmung der Stickoxid-Synthese im Gehirn induziert werden und so eine verbesserte Wirkung von serotonergen Antidepressiva erzielt werden.

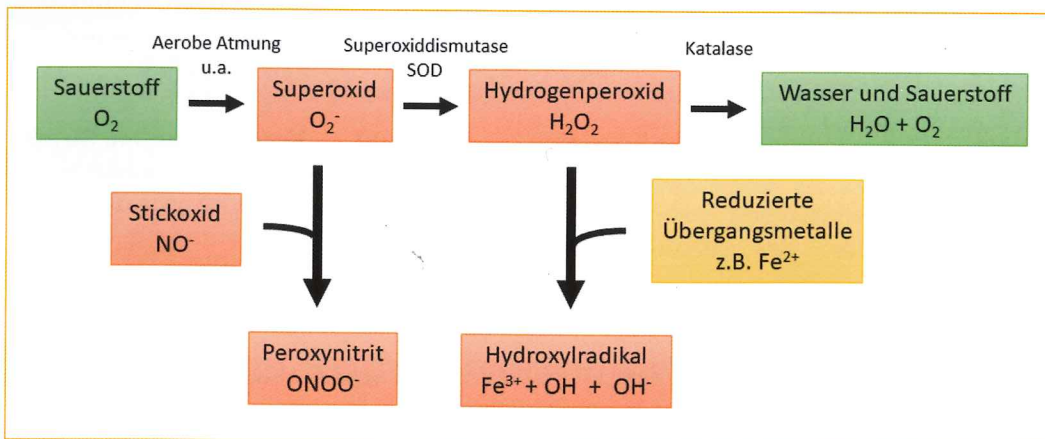


Abb. 1 Produktion von radikalen Sauerstoffverbindungen (nach Lee S.-Y. et al., 2013)

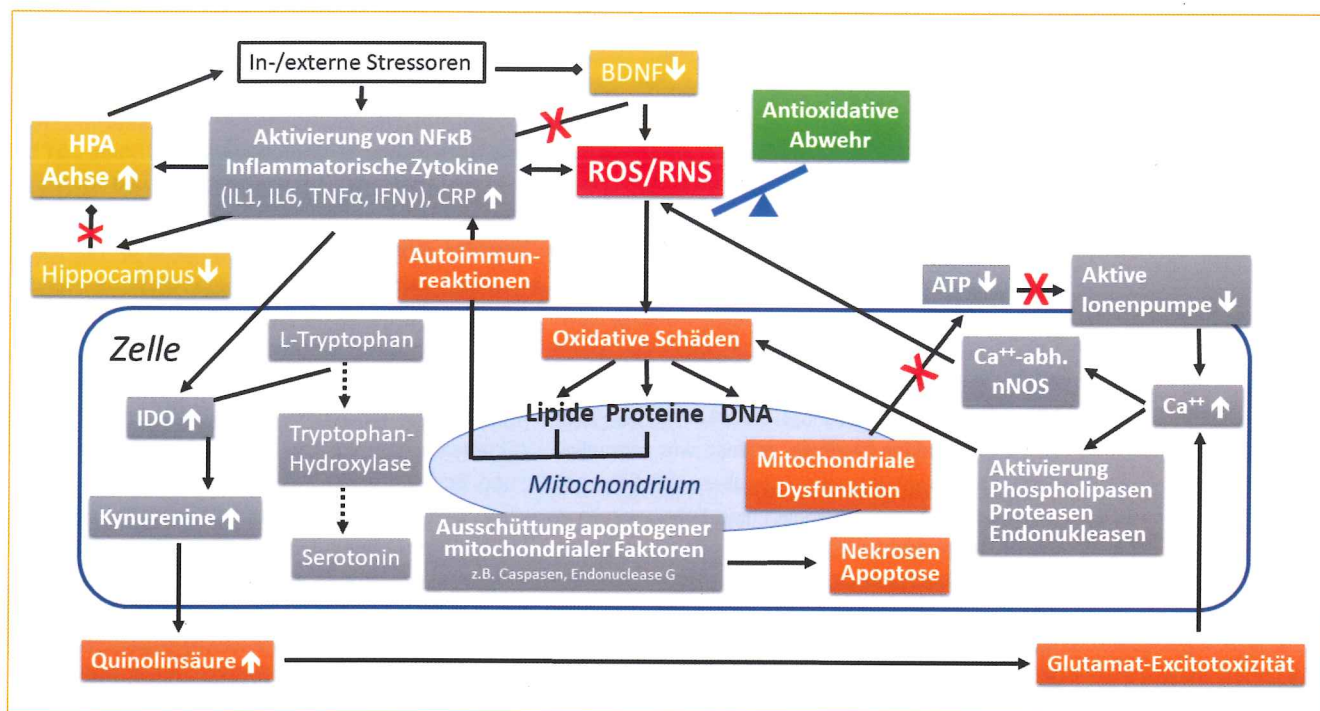


Abb. 2 Mechanismen oxidativer und nitrosativer Schädigung in den Zellen und im Gehirn ((nach Lee S.-Y. et al., 2013), BDNF: Brain-derived nuclear factor, HPA: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse, IDO: Indolamin 2,3-Dioxygenase, ROS/RNS: oxidativer/nitrosativer Stress, CRP: C-reaktives Protein

Umgekehrt werden durch die Gabe von Antidepressiva über 8 Wochen eine Verringerung der Stickoxidkonzentration im Gehirn erreicht.

Mitochondrien als zentrale Organellen im Gehirn

Mitochondrien sind intrazelluläre Organellen, die durch Energietransformation Leben ermöglichen. Das Gehirn benötigt besonders viel Energie, um adäquat zu funktionieren. Dieser hohe Energiebedarf resultiert aus der notwendigen ATP-Produktion, um den Ionengradienten an der Zellmembran zu erhalten. Dieser Gradient wird in Signalprozessen verwendet, z. B. zur Bildung von Aktionspotentialen (hohes intrazelluläres K^+ /niedriges Na^+ , Ca^{++} -Einstrom durch Neurotransmitter-Aktionen) oder für den Uptake und die Ausschüttung von Neurotransmittern. Der hohe Energieverbrauch im Gehirn – die ATP-Produktion – wird durch aerobe Respiration sichergestellt. Dies bringt mit sich, dass oxidative Prozesse zwar den hohen Energiebedarf decken. Aber das erhöht auch die Verletzlichkeit gegenüber oxidativen/nitrosativen Stress, der in der Lage ist, Lipide, Proteine und Gene zu verändern. Lipide stellen ca. 50% des Gehirn-Trockengewichtes dar und diese bestehen zu 50–70% aus polyungesättigten Phospholipiden, die besonders anfällig für oxidative Schäden sind. Oxidative Verbindungen bilden sich endogen hauptsächlich in den Mitochondrien, dem endoplasmatischen Retikulum und den Zellkernmembranen. Aber auch verschiedene enzymatische

Aktivitäten außerhalb der Elektronentransportkette setzen radikale Sauerstoffverbindungen frei. Zu ihnen zählen die Xanthinoxidase, NADPH Oxidase, CYP450 Monooxygenasen, aber auch Monoaminoxidasen, die im Dopamin- und Serotoninmetabolismus eine Rolle spielen. Faktoren, die oxidative Prozesse im Gehirn maximieren, sind unter anderem die genetische Ausstattung, Immunaktivierung, Excitotoxizität, Neurogenese/Neuroplastizität, psychosozialer Stress oder Energiemangel.

Seit Kurzem wurden Mitochondrien auch als Schlüsselkomponenten des Stress-Responses entdeckt. Trotz des rasanten Aufstiegs der mitochondrialen Forschung in die moderne Medizin, ist die mitochondriale Biologie aber weiterhin noch relativ wenig verstanden. Weithin besteht aber Konsens, dass genetische und biochemische mitochondriale Defekte multisystemische, körperlich schwächende, klinische Störungen hervorrufen. Wie im Tierversuch gezeigt, können Veränderungen in den Mitochondrien direkt die systemische metabolische Regulation, die Gehirnfunktion, Immunaktivierung und auch Alterung und Lebensspanne beeinflussen. Neuere Studien lassen vermuten, dass Mitochondrien sowohl Ziel für stressbedingte Veränderungen als auch Mediator und Regulator in der Stress-Pathophysiologie sind. Mitochondrien sind nicht nur die Hauptquelle für die zelluläre Energiegewinnung, sondern auch für die Synthese von Steroidhormonen. Die Glucocorticoid-Synthese

findet in der Zona fasciculata im adrenalen Cortex statt und läuft über eine Serie molekularer Reaktionen ab, die in den Mitochondrien katalysiert wird. In kultivierten Neuronen und anderen Zelltypen reduziert chronische Behandlung mit Glucocorticoiden die Aktivität spezifischer Elektronentransportketten-Komplexe und steigert die mitochondriale Radikalbildung. Eine andere wichtige Gruppe von Hormonen, die im Verlauf des Stress-Responses ausgeschüttet wird, ist die der Katecholamine Dopamin und teilweise auch Noradrenalin und Adrenalin. Die Enzyme, die in den Abbau der Katecholamine involviert sind, sind die Monoaminoxidasen A und B. Sie anker an der äußeren Mitochondrienmembran, ebenso wie vermutlich auch die Tyrosinhydroxylase (Synthese der Katecholamine). Mitochondrien spielen eine Schlüsselrolle in der Allostase der Neurotransmission und Depression, denn sie halten die körperliche Stabilität und Kraft bei Stresssituation aufrecht. Umgekehrt führen Dysfunktionen der Mitochondrien zu oxidativen und inflammatorischen Vorgängen, die die Stimmung beeinflussen. Glucocorticoide regulieren die Aktivierung des NMDA-Rezeptors und die Glutamat-Ausschüttung, fördern die Vernetzung von Dendriten und den Turnover in den spinalen Synapsen.

Glutamat – Neurotransmitter und neurotoxisches Agens

Die Aminosäure L-Glutamat ist ein excitatorischer zentraler Neurotransmitter, der drei Rezeptor-Subtypen aktiviert: AMPA, NMDA und Kainate. Die Aktivierung des NMDA-Rezeptors erfolgt mit der Bildung von

langsamen postsynaptischen Potentialen, was eine Vielzahl von Gehirnfunktionen regelt, zum Beispiel die Konsolidierung des Langzeitgedächtnisses, die Regulation der Neurogenese, Synaptogenese und das Überleben der Neuronen im Wachstum und bei Erwachsenen. Neurotrope Faktoren und Glutamat interagieren, um die Neuroplastizität zu entwickeln und zu erhalten. Glutamat stimuliert BDNF (Brain derived neurotropic factor) und dieser wiederum modifiziert umgekehrt die neuronale Glutamat-Sensitivität und die Calcium-Homöostase. Neurotrope Faktoren dürften das Glutamat-Signalling direkt durch Änderungen der Expression von Glutamat-Rezeptor Untereinheiten und Calcium-regulierenden Proteinen und indirekt durch die Aktivierung von antioxidativen Enzymen, energieregulierenden und antiapoptotisch wirkenden Proteinen modifizieren. Eine verlängerte Rezeptoraktivierung jedoch führt zu zahlreichen pathologischen Konsequenzen wie Calcium-Overload, oxidativem Stress, mitochondriale Schädigung und möglicherweise auch Zelltod. Diese Excitotoxizität manifestiert sich in psychischen, neurodegenerativen Erkrankungen und neuronalen Schäden. Pathophysiologisch sind Glutamat und eine abnorme NMDA-Rezeptoraktivität Hauptakteure bei der Entwicklung von zahlreichen neurologischen Erkrankungen wie Morbus Parkinson, Morbus Alzheimer, Epilepsie, Ischämie, Schlaganfall, Ängste und Depression. Auch neuropathische Schmerzzustände sind abhängig von Glutamat und dem NMDA-Rezeptor. Auch die Pharmaindustrie beschäftigte sich in den letzten Jahren verstärkt mit der Entwicklung von NMDA-Rezeptor-Antagonisten für diese speziellen Erkrankungen. Einer der ersten NMDA-Antagonisten war die D-Aminophosphonovaleriansäure, die als kompetitiver Antagonist der Glutamat-Bindungsstelle fungiert. Die Excitotoxizität ist verbunden mit einer mitochondrialen Dysfunktion mit nachfolgenden oxidativen Schäden und einer Reduktion des intrazellulären ATPs. Speziell wurde gezeigt, dass Glutamat eine Erhöhung des Malondialdehyd-Gehaltes, einem Marker für Peroxidation von Lipiden, Senkung des Glutathionspiegels und Superoxiddismutase-Aktivität (SOD) auslöst.

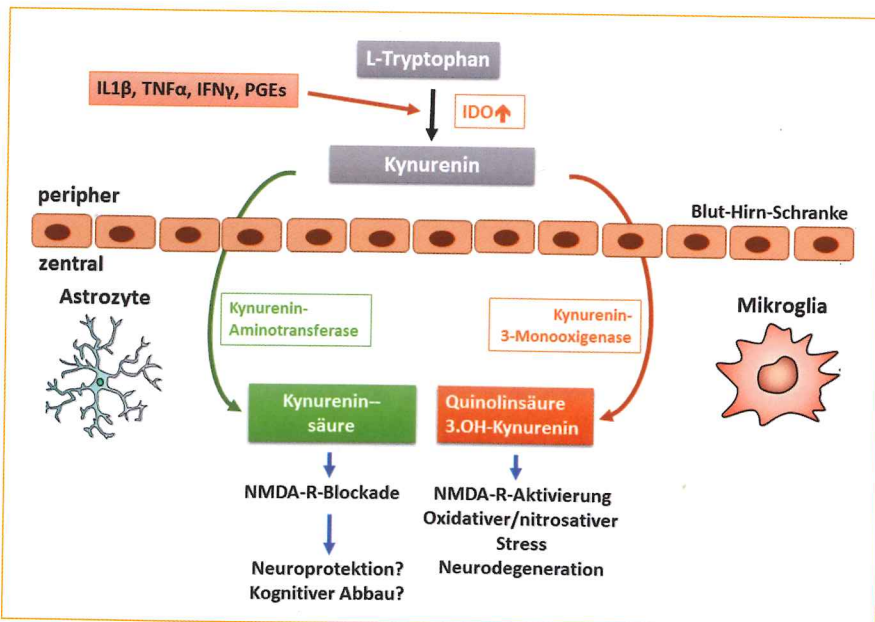


Abb. 3 Chronisch inflammatorischer Mechanismus mit einer zentralen und peripheren Aktivierung der IDO und deren Metaboliten. Einfluss auf die Glutamat-NMDA-Rezeptor-Funktion (nach Chaves Filho A.J.M. et al, 2018). IDO: Indolamin 2,3-Dioxygenase, PGE: Prostaglandin E, NMDA-R: N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor

Kynurenine – physiologischer und pathologischer Tryptophanabbau

Die Überproduktion proinflammatorischer Zytokine aktivieren ein Hauptenzym des Tryptophanmetabolismus, die Indolamin 2,3-Dioxygenase, die L-Tryptophan der Serotoninsynthese entzieht und die Produktion der Tryptophanmetaboliten Kynurenin (KYN), 3-Hydroxy-Kynurenin 3-HK), Kynureninsäure (KYNA), Xanthurensäure und Quinolinsäure (QUIN) forciert. Die Tryptophanmetaboliten haben unterschiedliche biologische Funktionen und neurogene Aktivitäten: Kynureninsäure (KYNA) beispielsweise scheint in

physiologischen Konzentrationen antioxidative und neuroprotektive Funktion zu haben. Dies ist hauptsächlich auf die Fähigkeit zurückzuführen, den NMDA-Glutamatrezeptor (N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor) zu blockieren. Auf der anderen Seite haben 3-HK und QUIN schädliche Effekte, einschließlich Neuro-, Exo- und Zytotoxizität und prooxidatives Potential. Diese schädigenden Tryptophan-Metaboliten werden offenbar auch bei Depressionen überdurchschnittlich produziert. In Versuchen wurde demonstriert, dass Tiere, die chronischem Stress oder einer Immunchallenge mit Lipopolysaccharid ausgesetzt sind, eine erhöhte IDO Expression bzw. Aktivität zeigten und die Tryptophan-Metaboliten in Gehirnregionen, die für die Stimmungsregulation verantwortlich sind – Hippocampus, Hypothalamus und Amygdala – ansteigen. Einige Autoren berichten über signifikante Assoziationen zwischen IDO-Aktivierung oder ansteigenden Serum-Tryptophan-Metaboliten und den Beginn und dem Schweregrad von Stimmungssymptomen bei depressiven Patienten.

Quinolinsäure – Neurotoxisches Produkt der entzündungsbedingten Kynureninbildung

Quinolinsäure, ein NMDA-Rezeptoragonist, ist ein potentes Neurotoxin. Der Mechanismus der durch Quinolinsäure induzierten striatalen Toxizität ist eine durch Überaktivierung des NMDA-Rezeptors ausgelöste Calcium-Überladung, dem Defekte in der mitochondrialen Energiegewinnung, Neuroinflammation, oxidative und nitrosative Schäden folgen. Das mitochondriale Energiedefizit scheint das Resultat einer ansteigenden Produktion reaktiver Sauerstoffspezies und Neuroinflammation zu sein, was auch eine Schlüsselrolle in verschiedenen neurodegenerativen

Erkrankungen spielt. Quinolinsäure erhöht offensichtlich die Aktivität der induzierbaren Stickoxid-Synthetase im Striatum, welches wiederum eng verbunden ist mit einer NMDA-Rezeptorstimulation und darauf folgende Bildung von Peroxynitrit. Peroxynitrit ist ein starkes Oxidans mit cytotoxischen Effekten auf Zellbestandteile wie DNA, Proteine und Lipide. Es hemmt die Elektronentransportkette und aktiviert die Apoptose.

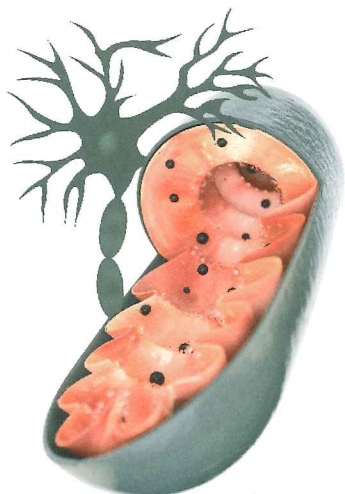
Labordiagnostik

Bestimmung von Bestandteilen des antioxidativen Abwehrsystems:

1. Glutathion (GSH): Bestimmung des wichtigen zellulären/mitochondrialen Schutzfaktors. GSH wird in der Zelle aus den Vorstufen L-Cystein, Glycin und L-Glutamat in reduzierter oder oxidiert Form (GSSG) oder an Metaboliten gebunden, aktiv aus der Zelle exportiert und umgehend wieder in die einzelnen Aminosäuren gespalten. Die seit Jahren bewährte durchflusszytometrische Bestimmung des Gesamt-Glutathions in T-Zellen (GSH intrazellulär) ist repräsentativ für die Glutathionversorgung aller Immunzellen und hervorragend als Basis- und Verlaufsparmeter sowie zur Therapiekontrolle geeignet. Die extrazelluläre GSH-Gesamtkonzentration ist weniger geeignet, den intrazellulären Gehalt wiederzugeben. Doch das Verhältnis von reduzierten zu oxidierten Glutathion (GSHox/red) kann als Indikator für vermehrten oxidativen Stress in der Zelle verwendet werden. Normalerweise liegen über 90% des Glutathions in der Zelle in reduzierter Form vor. Bei entzündlichen Krankheiten,

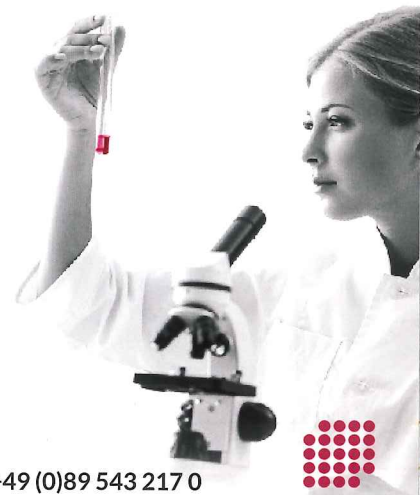
Labordiagnostik: Nitrostress/Neurostress und Mitochondrienfunktion

Lab4more
Mehr als nur ein Labor



Das messen wir!

- ATP-Check/ATP-Check Plus/ATP Select
- Glutathion zellulär, oxidiert/reduziert
- Nitrotyrosin
- Pyruvat/Laktat Quotient im Urin
- Coenzym Q10
- B12/Holotranscobalamin/Methylmalonsäure
- Adrenale Stressachse
- Neurotransmittermetabolismus
- Tryptophanmetabolismus



chronischen Infektionen oder neurodegenerativen Erkrankungen wird eine Verminderung der Reserve an reduziertem Glutathion beobachtet. Der Anteil an „verbrauchtem“, oxidiertem Glutathion steigt dagegen an. Damit ergänzt der Parameter Glutathion oxidiert/reduziert idealerweise die bewährte Bestimmung des Gesamt-Glutathions in der Zelle (GSH zellulär) und erlaubt vor allem bei normalem Gesamt-Glutathion eine erweiterte Beurteilung des Glutathion-Stoffwechsels.

2. GPX/Glutathionperoxidase-Aktivität im Vollblut: Glutathionperoxidase (GPX) katalysiert die Glutathion-abhängige Reduktion von Sauerstoffradikalen, die in Phase 1 des Entgiftungs-metabolismus entstehen. Beim Menschen sind acht Isoenzyme GPX1-8 bekannt, von denen die intrazelluläre GPX1 mit Abstand die wichtigste ist. Im Extrazellulärraum überwiegt die GPX3. Die GPX ist von besonders hoher Bedeutung für die „Entgiftung“ von Lipidperoxiden, wobei GSH zu GSSG oxidiert wird. Das katalytische Zentrum des Moleküls bildet ein Selenocystein-Molekül. Bei Selenmangel wird die Funktion dieses zentralen Enzyms im Glutathionstoffwechsel beeinträchtigt.
3. Vitamin B12 ist ein wichtiger körpereigener NO/NOS-Scavenger. Für eine genaue Analyse der funktionellen B12-Leistung ist die Bestimmung des aktiven Moleküls Holo-Transcobalamin im Serum oder von Methylmalonat im Urin wertvoll. Methylmalonat steigt bei B12-Mangel an. Eventuell ist eine Messung von Vitamin B1, B2, K1 sinnvoll, die alle in die Funktion der Atmungskette und des mitochondrialen Substratmetabolismus involviert sind.
4. Coenzym Q10, das Teil der Atmungskette selbst ist und dessen Ausfall die Effizienz der Energiegewinnung empfindlich stört. Außerdem fungiert Q10 als sehr wertvolles, lipidlösliches Antioxidans.
5. Selen, das Bestandteil zahlreicher Selenoproteine wie u. a. der GPX und Aconitase ist. Außerdem Zink (Vollblut) als Bestandteil der zytoplasmatischen Cu/Zn-SOD (Superoxiddismutase); Mangan als Bestandteil der mitochondrialen SOD2 und Magnesium.

Messung toxischer Metaboliten und deren Aktivatoren:

1. Nitrotyrosin: Der wichtigste Marker für den Peroxynitrit-abhängigen nitrosativen Stress und oxidative Proteinschädigung ist Nitrotyrosin. 3-Nitrotyrosin (3-NT) entsteht durch die

Oxidation und Nitrierung der Aminosäure Tyrosin. Neben der reaktiven Sauerstoffspezies HOCl sind insbesondere die reaktiven Stickstoffspezies Nitrylchlorid (NOCl₂), NO, NO₂ sowie Peroxynitrit (ONOO-) für die Bildung von 3-NT in biologischen Systemen verantwortlich gemacht. Die Ausbeute der Nitrierung von Tyrosin durch Peroxynitrit ist bei physiologischem pH-Wert eher gering. Erst bei hohen Peroxynitrit-Konzentrationen (>100 μM) wird eine Ausbeute von 4–5% 3-Nitrotyrosin erreicht. Insbesondere bei neurodegenerativen Erkrankungen ist die Nitrierung von Tyrosin-Resten in Proteinen ein pathologisch relevanter Vorgang, u. a. bei der amyotrophen Lateralsklerose (ALS), dem Parkinson Syndrom, dem Alzheimer Syndrom und der Multiplen Sklerose. Weitere Erkrankungen, bei denen man vermehrt 3-3-Nitrotyrosin-Reste in Proteinen gefunden hat, sind Arteriosklerose, Diabetes und alle chronisch entzündlichen Erkrankungen. Daher ist nur die Bestimmung von Nitrotyrosin ein direktes Maß des Peroxynitrit-induzierten nitrosativen Stresses. Da die Urinkonzentration von nicht-metabolisiertem Nitrotyrosin im Urin zu gering ist, ist nur die Messung im Plasma sinnvoll. In erster Linie das hochtoxische Peroxynitrit, das allerdings nicht direkt, sondern nur über das Reaktionsprodukt Nitrotyrosin im Plasma gemessen werden kann. Peroxynitrit nitrosyliert bevorzugt den Tyrosinrest von Proteinen, die abgebaut werden. Nitrotyrosin wird weiter zu Nitrophenylelessigsäure (NPEG) metabolisiert, die im Urin messbar ist. Nachteil ist allerdings, dass NPEG überwiegend (ca. 80%) aus peripheren Nitrierungsreaktionen (freies Tyrosin) stammt.

2. Citrullin wird häufig für die Abschätzung des nitrosativen Stresses empfohlen, da es bei der Generierung von NO aus Arginin gebildet wird. Allerdings ist die NO-Bildung im Wesentlichen ein physiologischer Prozess und kann nicht von der toxischen NO-Produktion differenziert werden. Dazu kommt, dass Citrullin wieder in Arginin umgewandelt wird und in großer Menge im Dünndarm gebildet wird. Die Citrullin-Konzentration im Blut reflektiert das Gleichgewicht zwischen intestinaler Synthese und der renalen Umwandlung in Arginin. Es ist daher nicht ersichtlich, dass Citrullin ein Maß der toxischen NO-Bildung sein könnte.

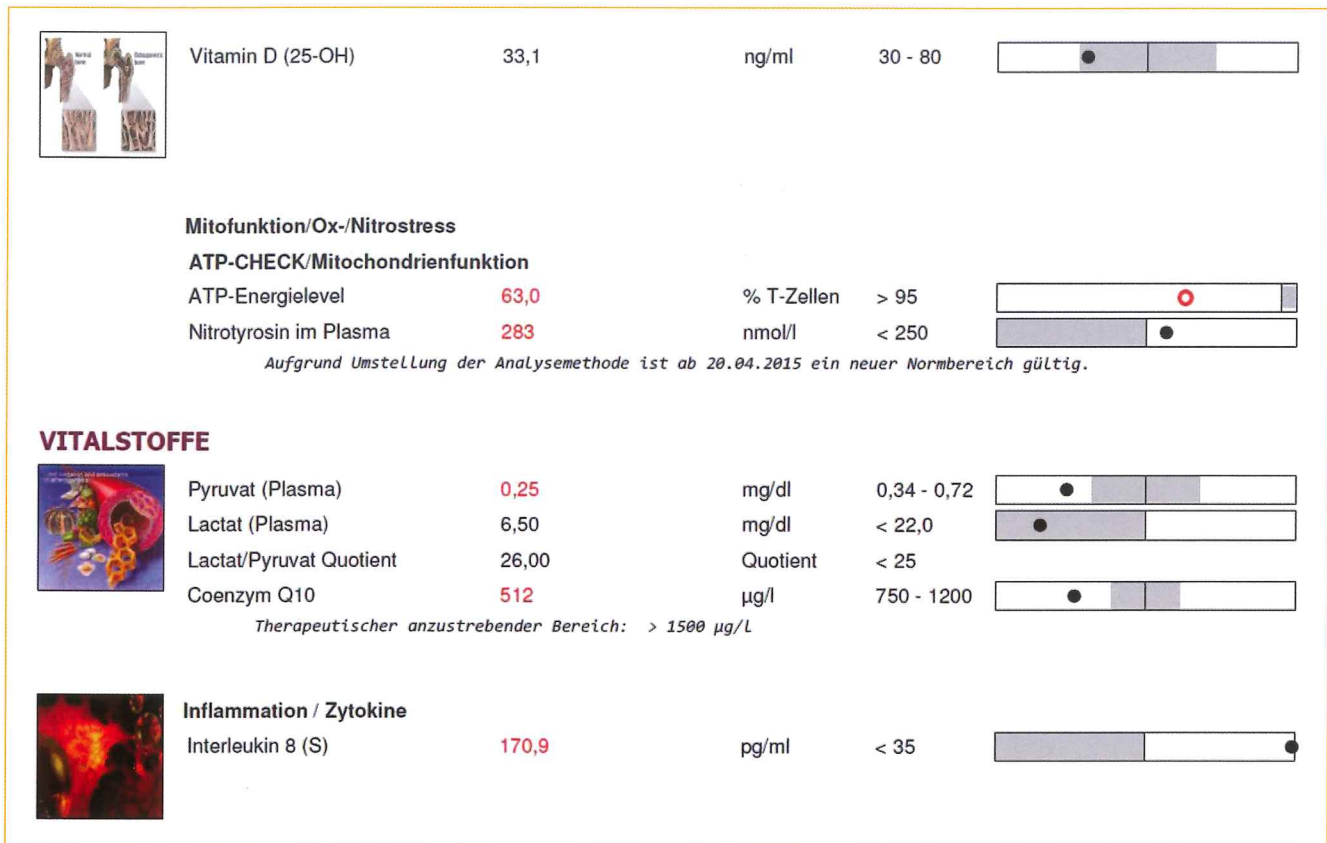


Abb. 4 Musterbefund mit einigen ausgewählten Parametern (Lab4more GmbH, München)

Patient mit starker Tagesmüdigkeit, Depressionen, verringerte Aufmerksamkeit und häufigen Infekten. Der Anteil an T-Zellen mit adäquater ATP-Bereitstellung (Mitochondrienfunktion) ist vermindert und der Quotient Lactat/Pyruvat erhöht. Der Befund spricht für eine Belastung durch erhöhte oxidative/nitrosative Aktivität, zumal Nitrotyrosin erhöht nachweisbar ist. Möglicherweise sind dadurch Funktionsstörungen der mitochondrialen Atmungskette (sek. Mitochondriopathie) oder auch ein Immundefizit (T-Zell-Funktionsstörung) zu erklären. Coenzym Q10 Mangel ist ein weiterer Hinweis für eine schlechte mitochondriale Funktion. Interleukin 8 ist erhöht, was ein Hinweis auf protrahiertes systemisch inflammatorisches Geschehen sein kann (z. B. neuroregulatorische Störungen, Infektionen), Verlaufskontrolle, ggf. antiinflammatorische Therapie. Weitere Untersuchungen empfohlen: ATP-Select - zur Auswahl auf den ATP-Level positiv wirkende Vitalstoffe, Mineralstoffe im Vollblut (Selen/Magnesium/Zink), Adrenale Stresshormone im Speichel, Neurotransmitter im Urin. Therapieempfehlungen (z. B. von NeuroLab GmbH): B-Komplex forte, N-Acetyl-Cystein/L-Cystein+L-Theanin (TheaNAC), Curcumin (CurcuPro, 1g/die), Q10Ubiquinol100, Mg-L-Threonat.

Parameter, die Energiegewinnung und mitochondriale Funktion untersuchen

1. ATP-Messung: Bestimmung der Energieeffizienz der Mitochondrien. ATP wird sowohl im Plasma als auch intrazellulär in Blutzellen gemessen. Die Plasmabestimmung ist potentiell aussagekräftiger, insoweit sie den Gesamtkörpergehalt an ATP widerspiegelt. Allerdings wird die Messung sehr leicht verfälscht durch Austritt von erythrozytärem ATP-Überschuss und plasmatische Degradation. Die zelluläre Bestimmung liefert jedoch stabilere Ergebnisse. Im ATP-Check wird die Produktion von ATP in Mitochondrien von lebenden T-Lymphozyten des Patienten gemessen. Zellen mit adäquater ATP-Produktion zeigen nach Zugabe einer speziellen, mitochondrial metabolisierbaren Verbin-

dung ein anderes Farbspektrum als Zellen mit verminderter ATP-Produktion. Die Differenzierung und Quantifizierung erfolgt hochempfindlich im Durchflusszytometer. Der ATP-CheckPlus ist eine Erweiterung des Basistests ATP-Check. Wie bei diesem wird die ATP-Bereitstellung der Mitochondrien als Marker der Mitochondrienfunktion an lebenden Lymphozyten gemessen. Der ATP-CheckPlus beinhaltet zusätzlich eine Messung der ATP-Produktion unter einer Stress- bzw. Mangelsituation der Zellen. Hier lassen sich Patienten mit nur geringem Abfall der ATP-Produktion (<15%) von solchen mit deutlichem Rückgang der Mitochondrienaktivität (>15%) unterscheiden. Dies kann auch bei Patienten mit unauffälliger ATP-Produktion im Basistest auftreten und kann dann als Hinweis auf eine

reduzierte Kompensationsfähigkeit der zellulären Energiebereitstellung gewertet werden, z. B. durch eine suboptimale Versorgung der Zellen mit essentiellen Mikronährstoffen. Der Test ist damit geeignet, Patienten mit einem latenten Risiko für eine sekundäre Mitochondriopathie zu identifizieren. Im ATP-Select können nativ potentielle Substanzen, die die mitochondriale Funktion verbessern, eingesetzt und deren Einfluss auf die ATP-Bildung individuell untersucht werden.

2. Analyse von Substraten der Energiesysteme L-Carnitin bzw. Acyl-Carnitin, das als Carrier fungiert und freie Fettsäuren als Acylcarnitin aus dem Zytoplasma in die Mitochondrien transportiert, bzw. als freies Carnitin rezirkuliert wird.
3. Pyruvat, Lactat und deren Quotient: Pyruvat steigt im Blut bei Aktivitätsverlust der PDH (Pyruvatdehydrogenase) an. Lactat steigt bei Sauerstoffmangel, verminderter mitochondrialer Leistung, kurzfristiger Steigerung des Energiebedarfs (Exercise) oder nach exzessivem Anstieg von Plasmapyruvat an. Der Lactat: Pyruvat-Quotient verdeutlicht diese Zusammenhänge, ist jedoch entgegen gelegentlicher Behauptungen bei normalen Konzentrationen beider Metaboliten ohne Aussagekraft. Lactat und Pyruvat können seit Neuestem auch im Urin nachgewiesen werden, was den Vorteil der nicht invasiven Materialabnahme hat. Die Werte bleiben im Urin auch über einen längeren Transportzeitraum (>48 h) extrem stabil, zusätzlich zur einer gewissen Langzeitaussage besteht eben auch ein klarer präanalytischer Vorteil gegenüber der Blutbestimmung (Blutabnahme aus der ungestauten Vene).
4. Lactatdehydrogenase (LDH) kommt in nahezu allen Körperzellen vor, katalysiert die Konversion von Lactat in Pyruvat und umgekehrt. Vier gewebespezifische Isoenzyme sind bekannt. Ein Anstieg von LDH im Serum erfolgt bei Zellschädigung, und die Differenzierung der Isoenzym-Muster ermöglicht eine näherungsweise Zuordnung zum Schädigungsort.

Neue und bewährte Therapieoptionen

Magnesium-L-Threonat - Brain-Magnesium

Die Möglichkeit, neue Informationen im neuronalen Netzwerk zu speichern ist abhängig von dem Level der Plastizität synaptischer Verbindungen und von der Menge von verfügbaren Verbindungen. Deswegen ist die Anzahl der Synapsen kritisch für Lernen und Gedächtnis. In Versuchen mit Ratten konnte nachgewiesen werden, dass der Verlust an Synapsen mit altersabhängigem Gedächtnisverlust kor-

reliert, während Hormone und Neuropeptide, wie Östrogen, Neurotrophin, Insulin/IGF und Ghrelin, die Synapsendichte steigert und die Gedächtnisleistung verbessert. Die Ernährung in Verbindung mit Umweltfaktoren hat eine entscheidende Rolle bei der Bildung kognitiver Gehirnkapazität. Eine Hauptaufgabe von Magnesium ist die Modulation der spannungsabhängigen Blockade des NMDA-Rezeptors. Es wird vermutet, dass Magnesium ein positiver Regulator der synaptischen Plastizität ist. Im in vitro Versuch wurde gezeigt, dass eine Steigerung des Magnesiums die synaptische Plastizität in Hippocampusneuronen verbessert. Die Magnesiumkonzentration in der Gehirnflüssigkeit ist höher als im Plasma. Dies wird durch aktiven Transport gewährleistet, der wiederum die Menge an Magnesium, die ins Gehirn aufgenommen wird, reguliert. In der Tat steigert die intravenöse Infusion von Magnesiumsulfat um 100–300 % die Magnesiumkonzentration im Gehirn nur um 10–19 %. Es stellt sich die Frage, wie effektiv der Einfluss einer langdauernden oralen Substitution von Magnesium auf die Gedächtnisfunktion ist. In in-vivo-Untersuchungen verschiedener Magnesiumverbindungen, Mg-Chlorid, Mg-Citat, Mg-Gluconat und einer neuen Verbindung Magnesium-L-Threonat, ließen sich mit Mg-L-Threonat die besten Ergebnisse erzielen – gezeigt wurden eine Erhöhung der Mg-Konzentration in der Gehirnflüssigkeit, verbessertes Kurzzeit- und Langzeitgedächtnis. Außerdem wurde eine Erhöhung des NMDA-Rezeptor-Signallings und der synaptischen Plastizität erreicht.

L-Theanin

L-Theanin ist eine biologisch aktive Aminosäure aus der Teepflanze *Camellia sinensis*, die auch die Blut-Hirnschranke über den L-Leucin bevorzugenden Transporter gut überwinden kann. L-Theanin ist in der Lage, im Gehirn den Stoffwechsel von Dopamin, Serotonin und GABA zu beeinflussen. Es hat eine limitierte Affinität zu AMPA, Kainate und NMDA-Rezeptoren, was im Gehirn neuroprotektive Eigenschaften besitzt. Humane Untersuchungen zeigen, dass die orale Gabe von L-Theanin ein Gefühl von Entspannung bereits nach 30–40 Minuten auslöst, das sich über zwei Wege erklären lässt. Einmal stimuliert es direkt die Produktion von Alpha-Gehirnwellen und es kommt zu einer tiefen Entspannung mit mentaler Wachheit. Zum anderen scheint es eine Rolle bei der Bildung von GABA zu spielen. Zudem hemmt L-Theanin oxidativen Stress und Neuroinflammation, ebenso senkt es den Proteinlevel der iNOS unter pathophysiologischen Bedingungen. L-Theanin wirkt im Tierversuch neuroprotektiv gegenüber ischämischen Reperfusionsschäden und Amyloid-beta-induzierter kognitiver Dysfunktion und oxidativem Stress. Im letzten Jahr wurde eine Studie veröffentlicht, die im Tierversuch

zeigte, dass Quinolinsäure-verursachte Veränderungen durch die Gabe von L-Theanin reduziert werden und L-Theanin antioxidative, antiinflammatorische und modulatorische Effekte auf den Stickoxid-Weg und Neurotransmitter-Level nachweisbar sind.

Catechine aus dem grünen Tee

Catechine und Epicatechine gehören zu der großen Gruppe der Flavonoide. Sie bilden die monomeren Bausteine der Proanthocyanidine, einer Reihe natürlicher Gerbstoffe, z. B. im schwarzen Tee oder Kakao, wo sie auch zur Geschmacksbildung beitragen. Epicatechine erhöhen die Expression von Untereinheiten des AMPA-Rezeptors und können die Phosphorylierung von CREB (cAMP-response element binding protein) im Hippocampus im Tiermodell steigern. BDNF und Bcl-2, zwei Targetgene von CREB, die für die synaptische Plastizität und Synapsenstruktur verantwortlich sind, konnten ebenfalls gesteigert werden. Aufgrund ihrer Radikal-fangenden Wirkung beugt eine Langzeitbehandlung mit Tee-Catechinen altersbedingtem Abbau von Proteinen vor. Epicatechine verhindern inflammatorische Vorgänge an den Astrozyten wahrscheinlich durch eine ansteigende Expression von Genen, die in den antioxidativen Zellresponse involviert sind.

N-Acetyl-Cystein (NAC)

NAC ist eine effektive Glutathionvorstufe, die nachweislich Glutathionspiegel im Gehirn auffüllt, hat aber zudem die Aufgabe, extrazelluläre Glutamat-Konzentrationen in bestimmten Gehirnregionen wiederherzustellen. L-Cystein ist nämlich maßgeblich an der Ausschleusung des potentiell neurotoxischen Glutamats aus der Zelle, auch im Gehirn, beteiligt. Glutamate Dysfunktionen sind Bestandteil der Pathogenese von Depressionen. NAC ist zudem ein potentes Antioxidans, dessen Effektivität bei der Reduktion von oxidativem Stress vielfach demonstriert wurde. So zum Beispiel bei der Inkubation von endothelialen Progenitorzellen (EPCs) mit CRP, was zu einer konzentrationsabhängigen Produktion von Radikalen und zu Apoptose führte, die durch Zugabe von NAC erfolgreich abgeschwächt wurden.

Curcuma und weitere pflanzliche Wirkstoffe

In Neuronen der Retina von Ratten konnten bei Inkubation mit Curcuma hemmende Effekte gegenüber einer NMDA-Rezeptor-Stimulation, die normalerweise zu nekrotischem und apoptotischem Zelltod führt, gezeigt werden.

10. Norddeutsches Symposium für klinische Umweltmedizin

22. - 23. Februar 2019 in Kiel

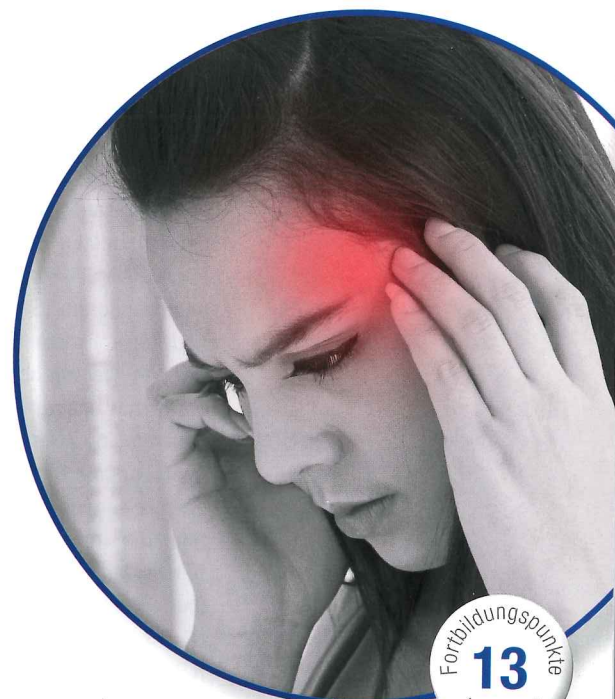
Erschöpfung als Kardinalsymptom entzündlicher und nicht entzündlicher Erkrankungen

Klinik, Diagnostik und Therapie

Referenten sind u. a.:

Prof. Rainer Straub, Universität Regensburg	Dr. Volker von Baehr, Berlin
Prof. Stefan Bornstein, Universität Dresden	Dr. Uwe Peters, Herborn
Prof. Carmen Scheibenbogen, Charité Berlin	Dr. Eckhard Schreiber-Weber, Bad Salzuflen
Prof. Fred Fändrich, Universität Kiel	Niels Schulz-Ruhtenberg, Hamburg
PD Wilfried Bieger, München	Dr. Birgitt Theuerkauf, Hamburg
Dr. Kurt Müller, Kempten	Dr. Claus Bückendorf, Kiel

Ein Fokus der Veranstaltung liegt auf der interdisziplinären Diskussion



Fortbildungspunkte
beantragt
13

Die Anmeldung und weitere Informationen zur Veranstaltung finden Sie auf www.dbu-online.de



Deutscher Berufsverband Klinischer Umweltmediziner e. V.

In Kooperation mit:



Deutsche Gesellschaft für
Umwelt-ZahnMedizin

Pflanze	Wirkung auf die Glutamat-Excitotoxizität
Curcumawurzel	Hemmung des Ca ⁺⁺ -Responses
Süßholzwurzel	Hemmung des Ca ⁺⁺ -Responses, Hemmung apoptotischer Enzyme, Reduktion des Zelltodes durch Excitotoxizität
Ginsengwurzel	Blockade NMDA-R-induzierter Wege, Hemmung des Ca ⁺⁺ -Responses, Reduktion des Zelltodes durch Excitotoxizität
Ginkgoblatt	Blockade NMDA-R-induzierter Wege

Tab. 1 Wirkung verschiedener Pflanzenbestandteile/-extrakte auf den Glutamat-Metabolismus/Excitotoxizität

Auch nekrotischer und apoptotischer Zelltod konnte direkt durch Behandlung mit Curcumin reduziert werden und das dadurch angestiegene intrazelluläre Ca⁺⁺ gesenkt werden. Die Phosphorylierung der NMDA-Rezeptor-Untereinheit NR1 konnte gesenkt werden, was den Schluss zuließ, dass Curcumin tatsächlich den Rezeptor blockiert.

Die Wurzel des echten Baldrians, *Valeriana officinalis*, besitzt sedative, antiinflammatorische und antihypertensive Eigenschaften. Alkoholische Extrakte zeigen dosisabhängig sowohl hemmende Effekte am NMDA-Rezeptor sowie auch am Kainat.

Der aktive Bestandteil Glycorrhizinsäure aus der Süßholzwurzel, *Glycorrhiza*, supprimiert in Rattenneuronen Glutamat-induzierten Zelltod durch Hemmung der Aktivität des Apoptose-Enzyms Caspase-3 und senkt den Glutamat-induzierten Ca⁺⁺-Anstieg.

Die Wurzel von *Panax Ginseng* hat immunstimulierende, neurotrope, neuroprotektive, kognitions- und gedächtnissteigernde Eigenschaften und ist eine der am besten untersuchten chinesischen Kräuter. Für die NMDA-Rezeptor-assoziierten Effekte werden unter anderem Saponine verantwortlich gemacht. Aktivitätssenkende Wirkungen zeigen sich sowohl am NMDA-Rezeptor, aber auch am AMPA-Rezeptor und am Kainat. Insgesamt wird von verbesserter Überlebensrate von Zellen nach Glutamat-induzierter Neurotoxizität durch Behandlung mit Ginseng berichtet.

Ginkgo wird in der chinesischen Medizin als Hustenmittel verwendet, aber man kennt auch positive Effekte auf die Kognition bei Alzheimer-Patienten und vaskulären Erkrankungen. Der zugrundeliegende Mechanismus ist wohl die Hemmung der Amyloid- β -Bildung. Ginkgolid B und Bilobalid hemmen die Signalausbreitung von NMDA. Ginkgo-Extraktpartikel, die kleiner als 100 nm sind, zeigen eine verbesserte Wasserlöslichkeit und einen besseren Transport durch

die Blut-Hirnschranke und dadurch eine verbesserte Hemmung NMDA-induzierter Veränderungen.

Spermidin

Spermidin ist ein endogenes Polyamin, das in hoher Konzentration im Gehirn vorkommt. Polyamine werden aus der Aminosäure Ornithin synthetisiert, wobei die Ornithin-Decarboxylase das limitierende Enzym in der Polyaminsynthese ist. Polyamine sind an zahlreichen mitochondrialen Funktionen beteiligt, zum Beispiel an der Permeabilität der Mitochondrienmembran, der Regulation des Ca⁺⁺-Transportes und der Stickoxid-Synthase (NOS) und dem Abfangen von Radikalen. Ein niedriger Spermidin-Level ist mit Alterung und Neurodegeneration assoziiert. Polyamine modulieren den NMDA-Rezeptor konzentrationsabhängig, indem sie an die Untereinheit NR2N des NMDA-Rezeptors binden. Eine polyaminreiche Diät erhöht die Lebensspanne im Tiermodell bei Hefen, Nematoden und Fliegen. In Studien mit Ratten wurde das therapeutische Potential von Spermidin bei Quinolinsäure-induzierter Neurotoxizität untersucht. Der durch Quinolinsäure ausgelöste oxidative Stress (Lipidperoxidation, Nitrit) konnte durch Spermidin signifikant reduziert und der intrazelluläre Glutathionmangel teilweise behoben werden. Spermidin ist Bestandteil verschiedener Nahrungsmittel – besonders hohe Konzentrationen befinden sich in Weizenkeimen, Natto, Sojabohnen, lang gereifter Käse, Äpfel, Birnen, Pilzen, Nüssen und Broccoli. Nennenswerte Mengen Spermidin werden auch von Darmbakterien synthetisiert und ausgeschieden. Probiotika sind ebenfalls Produzenten von Spermidin.

Acetyl-L-Carnitin

Im Gehirn und anderen Geweben wird der mitochondriale Fettsäure-Metabolismus durch die Veresterung von L-Carnitin aktiviert. Acetyl-L-Carnitin (LAC) schützt und verbessert die mitochondriale Funktion und ist Acetyl-Donor für mitochondriale Proteine und mitochondriale Histone. LAC unterstützt die mitochondriale Biogenese und verstärkt die mitochondriale antioxidative Kapazität, was mit einer Reduktion inflammatorischer Signale und einer antidepressiven Wirkung in Verbindung gebracht wird.

Creatin

Die Guanidin-ähnliche Substanz Creatin wird scheinbar seit einigen Jahrzehnten im Bodybuilding zur Leistungssteigerung verwendet. Erst in den letzten Jahren entstand die Vermutung, dass Creatin auch ein brauchbares Agens zur Verbesserung Excitotoxizitäts-vermittelter Erkrankungen sein könnte. In der Tat gibt es eine ansteigende Zahl von Reports, die von einer Evidenz berichten, dass Creatin neuroprotektive Effekte gegen Glutamat-induzierten Zelltod zeigt. Creatin senkt signifikant excitotoxische Läsionen, die durch NMDA,

jedoch nicht durch AMPA oder Kainat verursacht werden. Creatin hemmt direkt den NMDAR-vermittelten Calciumresponse und ATP-Abbau, induziert durch Glutamat. Weiterhin beugt Creatin dem Anstieg des NO-Levels vor, verursacht durch Glutamat in den neuronalen Gliazellen. Mit seiner antioxidative Kapazität wirkt Creatin als Radikalfänger gegenüber H_2O_2 und Peroxinitrit.

Dr. rer. nat. Annemarie Neuner-Kritikos
Schertlinstraße 13
86159 Augsburg | Deutschland

Augustenstraße 10 | Bavariahaus
80333 München | Deutschland

Literatur

- Chavez Filho A.J.M. et al.: IDO chronic immune activation and tryptophan metabolic pathway: A potential pathophysiological link between depression and obesity. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2018, Vol. 80, 234–249
- Hausladen A. et al.: Nitrosative stress: Activation of the transcription factor OxyR. *Cell*, 1996, Vol. 86 (5), 719–729
- Jamwal S. et al.: Protective effect of spermidine against excitotoxic neuronal death induced by quinolinic acid in Rats: Possible neurotransmitters and neuroinflammatory mechanism. *Neurotox. Res.* 2015, Vol. 28, 171–184
- Jamwal S. et al.: L-theanine prevent quinolinic acid induced motor deficit and striatal neurotoxicity: Reduction in oxido-nitrosative stress and restoration of striatal neurotransmitters level. *Europ. J. of Pharmacol.*, 2017, Vol. 81 (1), 171–179
- Lee S.-Y. et al.: Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: Targets for novel antidepressants. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2013, Vol. 46, 224–235
- Li W. et al.: Elevation of brain magnesium prevents synaptic loss and reverses cognitive deficits in Alzheimer's disease mouse model. *Molecular Brain* 2014 Vol. 7, 65ff
- Liang W. et al.: Current evidence of Chinese herbal constituents with effects on NMDA receptor blockade. *Pharmaceuticals* 2013, Vol. 6, 1039–1054
- Maes, M.: Depression is an inflammatory disease, but cell-mediated immune activation is the key component of depression. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2011, Vol. 35 (3), 664–675
- Matias I. et al.: Functions of flavonoids in the central nervous system: Astrocytes as targets of natural compounds. *Neurochem. Int.* 2016, Vol. 95, 85–91
- Mattson M.P.: Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008, Vol 1144, 97–112
- Maurya P.K. et al.: The role of oxidative and nitrosative stress in accelerated aging and major depressive disorders. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2016, Vol. 65, 134–144
- Meier, T.B. et al.: Relationship between neurotoxic kynurenine metabolites and reductions in right medial prefrontal cortical thickness in major depressive disorder. *Brain Behav. Immun.* 2016, Vol. 53, 39–48
- McKee et al.: Magnesium neuroprotection is limited in humans with acute brain injury. *Neurocritical Care* 2005, Vol. 2 (3), 342–351
- Picard M. et al.: An energetic view of stress: Focus on mitochondria. *Front. Neuroendocrinol.* 2018, Vol. 49, 72–85
- Picard M. und McEwens B.S.: Psychological stress and mitochondria: A systematic Review. *Psychosom. Med.* 2018, Vol 80 (2), 141–153
- Raison C.L. et al.: Activation of central nervous system inflammatory pathways by interferon-alpha: Relationship to monoamines and depression. *Biol. Psychiat.* 2009, Vol. 65, 296–303
- Slutsky I. et al.: Enhancement of learning and memory by elevating brain magnesium. *Neuron* 2010, Vol 65 (2), 165ff
- Stamler J.S. und Hausladen A.: Oxidative modifications in nitrosative stress. *Nat. Struct. Biol.* 1998, Vol. 5 (4), 247–249
- Wang J. et al.: Magnesium L-threonate prevents and restores memory deficits associated with neuropathic pain by inhibition of TNF- α . *Pain Physician* 2013, Vol. 16, 563ff