

## Tierexperimentelle Studie zum chronischen Thiaminmangel. Veränderungen des Kohlenhydrat- und Aminosäurenstoffwechsels unter Ruhe- und Belastungsbedingungen

M. Schwartau, M. Doebe und P. Jürgens

I. und II. Medizinische Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg, Hamburg  
(Chefarzte: Prof. Dr. G. Schwarz, Prof. Dr. P. Hanrath)  
und der Anästhesiologischen Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf  
(Direktor: Prof. Dr. H. Horatz)

### Zusammenfassung

In einer kontrollierten tierexperimentellen Studie werden die metabolischen Wirkungen eines definierten Thiaminmangels auf den Lactat-, Säuren-Basen- und Aminosäurenhaushalt unter Ruhe- und Belastungsbedingungen überprüft.

In guter Korrelation zur biologischen Halbwertszeit von Thiamin und in Übereinstimmung mit Literaturangaben bedingte die Thiaminmangelkost mit einer Latenz von 17 bis 56 Tagen parallel

1. statistisch gesicherte Hyperlaktatämien,
2. gegenüber den Kontrollwerten sehr deutlich, in der Mehrzahl statistisch gesichert erhöhte Plasmakonzentrationen von Threonin, Alanin, Glutaminsäure, Glutamin, Histidin, Methionin, Taurin, Valin, Isoleucin und Leucin sowie
3. gegenüber den Kontrollwerten sehr deutlich und statistisch gesichert erniedrigte Plasmakonzentrationen von Arginin und Tryptophan.

Darüber hinaus bedingte die energetische Belastung im genormten Belastungstest bei den thiaminarm ernährten Tieren parallel bedrohliche Laktazidosen, erheblich, statistisch gesichert ausgeprägte Homöostasesstörungen von Alanin, Glycin, Methionin und Arginin, sehr deutlich und statistisch signifikant erhöhte Plasmakonzentrationen von Prolin sowie statistisch signifikant abgesunkene, wieder im Bereich der Kontrollwerte liegende Plasmakonzentrationen von Taurin.

Für die Mehrzahl der unter Thiaminmangel erhobenen Befunde muß als entscheidende metabolische Ursache eine hepatische Verwertungsstörung von Pyruvat angenommen werden. Störungen des Transsulfuration-Pathway und Krebs-Henseleit-Zyklus erscheinen wahrscheinlich.

Die physiologische Regulation von Pyruvat, Lactat, Alanin, Serin und Tyrosin bei muskulärer Arbeit wird anhand der Kontrollwerte diskutiert.

### Summary

The metabolic effects of thiamine deficiency on the metabolism of lactate, acid-base and amino acids were evaluated both with and without muscular exercise in a controlled animal experiment.

Thiamine deficiency – in good correlation with its biologic halftime and also with reports in the literature – caused with a latency of 17–56 days and statistically proven in parallel the following effects:

1. hyperlactemia
2. in comparison to controls elevated plasma concentrations of threonine, alanine, glutamic acid, glutamine, histidine, methionine, taurine, valine, isoleucine and leucine
3. distinctly lowered – also in comparison to controls – plasma concentrations of arginine and tryptophan.

Furthermore, in the thiamine deficient rats predetermined muscular exercise caused the following effects, also occurring concomitantly:

1. life threatening lactacidosis
2. marked – statistically proven – disturbance of the homeostasis of alanine, glycine, methionine and arginine
3. distinctly – and statistically significant – elevated plasma concentration of proline
4. statistically significantly lowered plasma concentrations of taurine.

The reasons for all these changes under thiamine deficiency is most likely a metabolic one primarily due to a disturbance of the utilization of pyruvate in the liver. An additional disturbance of both the transsulfuration pathway and the Krebs-Henseleit-cycle seems probable.

The physiologic regulation of pyruvate, lactate, alanine, serine and tyrosine during muscular exercise in correlation to the controls is being discussed.

**Schlüsselwörter:** tierexperimenteller Thiaminmangel, Pyruvatverwertungsstörung, Laktazidose, Aminosäurehomöostasestörung

## Einleitung

Thiamin (Vitamin B 1) ist als Thiamin-Pyrophosphat ein Koenzym bei der oxydativen Decarboxylierung von Alpha-Ketosäuren und solchen durch Transketolasen bewirkten Reaktionen. Bei Thiaminmangelzuständen stehen daher metabolisch Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels im Vordergrund (1, 2, 3, 8).

Obgleich parallel Störungen im Abbau zahlreicher Aminosäuren angenommen werden müssen, liegen bisher nur wenige Berichte mit Einzelbefunden dazu vor. Bekanntlich steigt bei Thiaminmangelzuständen neben der Lactat- auch die Pyruvatkonzentration im Serum deutlich an, wobei parallel zum Pyruvat die Alaninkonzentration im Serum erhöht sein kann (8, 9). Im Urin thiaminarm ernährter Ratten wurden hohe Ausscheidungen von Phenylbrenztraubensäure (4) und Alpha-Ketoglutarsäure (15) registriert. Wir beobachteten bei einem Patienten mit einem unmittelbar postoperativ gesicherten Thiaminmangel parallel eine bedrohliche, scheinbar irreversible Laktazidose und Störungen der extrazellulären Homöostase von Glutaminsäure, Glutamin, Prolin, Citrullin, Ornithin, Histidin, Lysin, Phenylalanin, Tyrosin und Leucin, deren Serumkonzentrationen außerhalb der physiologischen Streuung erhöht waren, sowie von Taurin, Serin und Isoleucin, deren Serumkonzentrationen vergleichbar deutlich abgesenkt waren (11).

Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen chronischem, extremem Thiaminmangel, akutem Stress und den beobachteten Aminosäurehomöostasestörungen erscheint denkbar. In einer tierexperimentellen Studie sollten daher jetzt die Wirkungen eines definierten Thiaminmangels auf den Lactat-, Säuren-Basen- und Aminosäurenstoffwechsel unter sonst physiologischen Lebensbedingungen und unmittelbar nach einer dosierten Belastung überprüft werden.

## Material und Methodik

100 männliche Wistar-Ratten im Alter von mindestens 29 Lebenstagen, die zuvor parallel unter Normalbedingungen in entsprechenden Tierboxen betreut worden waren, wurden auf 2 Versuchsserien verteilt. Unter Beibehaltung sonst identischer Versuchsbedingungen und jeweils maximal über 56 Tage erhielten die 34 Tiere der Versuchsserie 1 (= Kontrollserie) Normalkost (Fa. Altrogge), die 66 Tiere der Versuchsserie 2 eine an Vitamin-B<sub>1</sub>-arme Kost (Fa. Altromin), in welcher – laut Hersteller – der Thiamingehalt bis an die untere Grenze der Nachweisbarkeit reduziert worden ist. Beide Kostformen wurden jeweils ad libitum gefüttert. Um eine Reutilisation des mit dem Kot ausgeschiedenen Thiamin zu verhindern, wurden die Tiere der Versuchsserie 2 auf entsprechende Gitterroste gesetzt.

Bei jeweils 8 Ratten der Versuchsserie 1 am 1., 29. und 56. Versuchstag und bei jeweils bei 8 Ratten der Versuchsserie 2 am 8., 13., 17., 21., 25., 29. und 56. Versuchstag erfolgte in Äthernarkose nach Laparatomie durch Punktions Blutentnahme aus der Vena portae. Alle Tiere schieden mit der Blutentnahme aus dem Versuch aus. Am 56. Versuchstag wurden außerdem jeweils 10 Ratten von Versuchsserie 1 und 2 für 5 Minuten in ein tiefes hochrandiges Wasserbad von 30 °C Temperatur gesetzt, aus welchem die Tiere aus eigener Kraft nicht entkommen konnten. Unmittelbar anschließend erfolgte bei diesen Tieren in Äthernarkose mit der oben beschriebenen Technik Blutentnahme aus der Vena portae. Zu den genannten Daten wurden im Portalvenenblut aller jeweils zugeordneten Tiere pH, PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, Standardbicarbonat (Gerät ABL-1, Fa. Radiometer, Kopenhagen) und Lactat (enzymatisch mit Testkombination der Fa. Boehringer, Mannheim) bestimmt. Außerdem wurden am 1. und 29. Versuchstag bei den Tieren der Versuchsserie 1, am 29. und 56. Versuchstag bei den Tieren der Serie 2, sowie am 56. Versuchstag nach dem Schwimmtest bei allen jeweils zugeordneten Tieren beider Versuchsserien die freien Aminosäuren im Plasma mittels Ionenaustauschchromatographie (Gerät LC 6000, Fa. Biotronic) gemessen.

Alle Ergebnisse wurden mit statistischen Methoden überprüft. Die Überprüfung der Varianzen erfolgte mit dem Bartlett-Test. Bei gleichen Varianzen wurden die Mittelwerte mit Hilfe des üblichen t-Test, bei ungleichen Varianzen mit Hilfe des Aspen-Welch-Test verglichen. Bei den relativ kleinen Tierkollektiven wurde zur statistischen Sicherung ein  $P < 0,01$  vorausgesetzt.

## Ergebnisse

Die Meßwerte von Plasmalactat sowie pH, PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub> und Standardbicarbonat im Blut sind für beide Versuchsgruppen in den Tabellen 1 und 2 bzw. den Abbildungen 1 und 2 zusammengestellt. Ausschließlich bei den Tieren von Versuchsserie 2 stiegen die Plasma-Lactat-Konzentrationen (Abb. 1), und zwar nach dem 13. Versuchstag deutlich an, waren am 17. Versuchstag sowohl gegenüber den Kontrollen vom 1. als auch 29. und 56. Versuchstag der Versuchsserie 1 bis zum Versuchsende signifikant erhöht. Das parallel umgekehrt proportionale Verhalten von pH und Standardbicarbonat in dieser Versuchsserie (Abb. 1) kann nur zu Einzelmeßdaten statistisch gesichert werden.

Bei den Tieren von Versuchsserie 1 bedingte der 5minütige Schwimmtest gegenüber allen Meßwerten derselben Serie parallel geringgradige, in der Mehrzahl statistisch gesicherte Anstiege von Lactat, sowie statistisch signifikant erniedrigte Mittelwerte von pH und Standardbicarbonat (Tab. 2). Am Ende des Schwimmtestes wirkten alle Tiere dieser Versuchsgruppe unerschöpft.

Tab. 1.  $pO_2$  und  $pCO_2$  im Portalvenenblut von männlichen Wistaratten unter 56tägiger Normalkost (Serie 1) und 56tägiger Thiaminmangelkost (Serie 2).

Tag	n	$pO_2$ in mm Hg				$pCO_2$ in mm Hg			
		Serie 1		Serie 2		Serie 1		Serie 2	
		X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
1.	8	47,6	± 11,4			39,3	± 5,4		
8.	8			49,0	± 12,4			45,2	± 4,4
13.	8			57,0	± 7,0			42,7	± 3,4
17.	8			57,9	± 5,2			44,7	± 2,3
21.	8			53,6	± 6,2			48,5	± 9,2
25.	8			54,5	± 7,3			44,7	± 3,0
29.	8/8	50,6	± 7,8	60,6	± 8,0	44,0	± 3,8	41,4	± 3,0
56.	8/8	51,9	± 7,4	55,3	± 9,3	43,3	± 6,9	44,7	± 8,6

 $X$  = Mittelwert

SD = Standardabweichung.

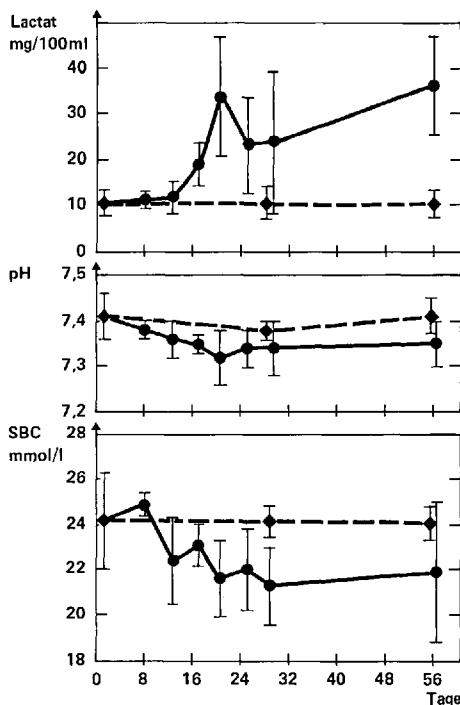


Abb. 1. Plasmalactat, pH und Standard-Bicarbonat (SBC) im Portalvenenblut von männlichen Wistaratten unter einer 56tägigen Normalkost (Serie 1, gestrichelte Linien), bzw. einer 56tägigen Thiamin-Mangelkost (Serie 2, durchgezogene Linien).

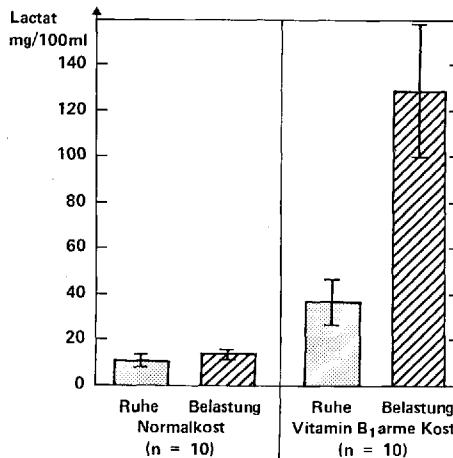


Abb. 2. Plasmalactat im Portalvenenblut von männlichen Wistarratten am 56. Tag einer Normalkost (Serie 1), bzw. einer Thiamin-Mangelkost (Serie 2) unter Ruhebedingungen und unmittelbar nach einem 5minütigen Schwimmtest.

Hingegen waren die Tiere von Versuchsserie 2 am Ende des 5minütigen Schwimmtestes stark erschöpft. Nur mit Mühe konnten sie sich noch über Wasser halten. Es wurden extrem erhöhte Plasma-Lactat-Werte ( $128,9 \pm 29,2 \text{ mg\%}$ ) (Abb. 2) und parallel extrem erniedrigte pH- ( $7,07 \pm 0,1$ ) sowie Standardbicarbonat-Werte ( $12,6 \pm 2,8$ ) registriert (Tab. 2), welche sowohl gegenüber allen zugeordneten Meßdaten der Serie 1 – einschließlich der Werte des Schwimmtestes – als auch der Serie 2 statistisch gesichert werden konnten.

Die in beiden Versuchsserien registrierten Plasma-Aminosäuren-Konzentrationen sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengestellt. Mit Ausnahme von Threonin sind die am 1. und 29. Versuchstag bei den Tieren der Serie 1 gemessenen Plasmakonzentrationen aller freien Aminosäuren in jeweils gleichen, auch mit statistischen Mitteln nicht unterscheidbaren Bereichen gelegen. Die Threonin-Plasma-Konzentration wurde am 1. Versuchstag mit  $188 \pm 13 \mu\text{mol/l}$  statistisch signifikant höher als am 29. Versuchstag ( $167 \pm 9 \mu\text{mol/l}$ ) gemessen, doch ist diese Differenz sowohl absolut als auch relativ gering (Tab. 3).

Unter der an Vitamin-B<sub>1</sub>-armen Kost (Versuchsserie 2) lassen sich die Plasma-Aminosäuren aufgrund typischer Konzentrationsänderungen in 3 Gruppen gliedern:

1. waren die Plasmakonzentrationen von Threonin, Serin, Asparagin, Glutaminsäure, Glutamin, Alanin, Isoleucin, Methionin, Taurin und Histidin bei allen Tieren der Versuchsserie 2 spätestens am 56. Versuchstag gegenüber allen zugeordneten Werten von Versuchsserie 1 deutlich und statistisch signifikant erhöht;
2. wurden bei allen Tieren der Versuchsserie 2 ab dem 29. Versuchstag statistisch signifikant erniedrigte Plasmakonzentrationen von Arginin und Tryptophan gemessen. Ausschließlich am 29. Versuchstag waren

Tab. 2. Plasmalactat, pH, Standard-Bicarbonat,  $pO_2$  und  $pCO_2$  im Portalvenenblut von männlichen Wistaratten am 56. Tag einer Ernährung mit Normalkost (Serie 1) bzw. Thiaminmangelkost (Serie 2) unter Ruhebedingungen und unmittelbar nach einem 5minütigen Schwimmtest.

		Serie 1 56. Versuchstag		Serie 2 56. Versuchstag	
		Ruhe	Schwimmtest	Ruhe	Schwimmtest
n		8	10	8	10
Lactat (mg %)	X	10,4	13,8 <sup>1</sup>	36,6 <sup>1</sup>	128,9 <sup>2</sup>
	SD	± 3,0	± 2,1	± 10,8	± 29,2
pH	X	7,41	7,30 <sup>2</sup>	7,35	7,07 <sup>2</sup>
	SD	± 0,04	± 0,04	± 0,05	± 0,1
Standard- Bicarbonat (mmol/l)	X	24,1	20,5 <sup>2</sup>	21,9	12,6 <sup>2</sup>
	SD	± 0,7	± 1,6	± 3,1	± 2,8
$pO_2$ (mm Hg)	X	51,0	55,9	55,3	55,4
	SD	± 7,4	± 6,9	± 9,3	± 9,5
$pCO_2$ (mm Hg)	X	43,3	50,2	44,7	49,5
	SD	± 6,9	± 5,9	± 8,6	± 7,4

<sup>1</sup> p < 0,01

<sup>2</sup> p < 0,001

X = Mittelwert

SD = Standardabweichung

ferner die Plasmakonzentrationen von Asparaginsäure und Citrullin bei allen Tieren von Versuchsserie 2 gegenüber den zugeordneten Werten von Versuchsserie 1 statistisch signifikant erniedrigt;

3. die Plasmakonzentration der verbleibenden Aminosäuren waren auch bei den Tieren von Versuchsserie 2 während der 56tägigen Versuchsdauer konstant im Normbereich gelegen (Tab. 3).

In der Gruppe der normal ernährten Tiere sind unmittelbar nach dem Schwimmtest im Vergleich zu allen jeweils zugeordneten Kontrollwerten derselben Serie die Plasmakonzentrationen von Alanin und Tyrosin statistisch signifikant erhöht, die Plasmakonzentrationen von Glycin statistisch signifikant erniedrigt (Tab. 4).

Bei den Vitamin-B<sub>1</sub>-arm ernährten Tieren (Serie 2) bedingte der Schwimmtest quantitativ gleiche Veränderungen der Plasma-Homöostase von Alanin, Tyrosin und Glycin. Während die quantitativen Veränderungen der Plasma-Tyrosin-Konzentrationen in beiden Serien annä-

Tab. 3. Plasmakonzentrationen der freien Aminosäuren im Portalvenenblut von männlichen Wistaratten unter Ernährung mit Normalkost (Serie 1) bzw. Thiaminmangelkost (Serie 2) ( $\mu\text{mol/l}$ ).

	Serie 1 Normalkost				Serie 2 Thiaminmangelkost			
	1. Tag (= A)		29. Tag (= B)		29. Tag (= C)		56. Tag (= D)	
	n = 8	X	n = 8	X	n = 8	X	n = 8	X
Taurin	117	$\pm$ 13	141	$\pm$ 13	141	$\pm$ 23	229 <sup>3,5,6</sup>	$\pm$ 62
Asparaginsäure	21	2	20	2	12 <sup>2,4</sup>	5	20 <sup>6</sup>	3
Threonin	188	13	167 <sup>1</sup>	9	191	29	314 <sup>3,5,6</sup>	93
Serin	195	20	200	10	266 <sup>2,4</sup>	24	283 <sup>3</sup>	53
Asparagin	43	6	40	4	56 <sup>2,4</sup>	4	57 <sup>3,5</sup>	9
Glutamin	596	46	579	21	775 <sup>2,4</sup>	68	630 <sup>3,5,6</sup>	42
Glutaminsäure	84	9	77	7	103 <sup>4</sup>	20	127 <sup>3,5</sup>	34
Prolin	183	19	178	19	?		168	70
Citrullin	58	11	63	7	34 <sup>2,4</sup>	7	55	19
Glycin	272	25	274	21	330	68	319	55
Alanin	345	31	313	33	374	54	485 <sup>3,5,6</sup>	85
Valin	140	9	140	13	170	26	155	38
Methionin	55	4	53	5	62 <sup>4</sup>	5	74 <sup>5</sup>	19
Isoleucin	68	4	66	12	89 <sup>2,4</sup>	17	90	42
Leucin	118	8	121	14	154 <sup>2,4</sup>	22	131	24
Tyrosin	51	6	52	6	59	12	54	6
Phenylalanin	56	3	59	5	66	10	55	8
Ornithin	56	7	66	8	50 <sup>4</sup>	12	81	42
Lysin	344	52	297	15	290	46	264 <sup>3</sup>	56
Histidin	61	3	68	6	74 <sup>2</sup>	4	76 <sup>3</sup>	7
Tryptophon	60	24	67	24	39 <sup>4</sup>	8	31 <sup>3,5</sup>	5
Arginin	144	17	147	15	117 <sup>2,4</sup>	14	90 <sup>5</sup>	30

<sup>1</sup> B : A p < 0,01    <sup>3</sup> C : B p < 0,01    <sup>5</sup> D : B p < 0,01

<sup>2</sup> C : A p < 0,01    <sup>4</sup> D : A p < 0,01    <sup>6</sup> D : C p < 0,01

X = Mittelwert, SD = Standardabweichung

hernd gleich waren, sind jene von Alanin und Glycin in Versuchsserie 2 erheblich, statistisch gesichert ausgeprägter als in Versuchsserie 1 (Tab. 4).

Unmittelbar nach dem Schwimmtest wurden bei den Tieren der Versuchsserie 2 darüber hinaus weitere extrazelluläre Aminosäurehomöostasestörungen registriert. So wurden parallel um ca. 200 % erhöhte Plasma-Prolin-Konzentrationen (jeweils P < 0,001) und gegenüber den Vergleichswerten vom 29. und 56. Versuchstag derselben Serie deutlich erniedrigte, wieder im Bereich der Kontrollwerte vom 1. und 29. Versuchstag der Serie 1 gelegenen Plasma-Serin-Konzentrationen gemessen (Tab. 4).

Während die am 56. Versuchstag unter Vitamin-B<sub>1</sub>-armer Kost (Serie 2) statistisch signifikant erhöhten Plasma-Taurin-Konzentrationen nach dem Schwimmtest statistisch signifikant auf Werte im Bereich der Kon-

Tab. 4. Plasmakonzentrationen der freien Aminosäuren im Portalvenenblut von männlichen Wistaratten am 56. Tag einer Ernährung mit Normalkost (Serie 1) bzw. Thiaminmangelkost (Serie 2) unmittelbar nach einem 5minütigem Schwimmtest (in  $\mu\text{mol/l}$ ).

	Serie 1		Serie 2	
	Normalkost 56. Tag (= E)		Thiaminmangelkost 56. Tag (= F)	
	n = 10 X	SD	n = 10 X	SD
Taurin	143	$\pm$ 27	130 <sup>6</sup>	$\pm$ 27
Asparaginsäure	20	2	25 <sup>5,7</sup>	6
Threonin	184	27	277 <sup>4,7</sup>	79
Serin	176	22	212 <sup>5,6,7</sup>	10
Asparagin	42	9	71 <sup>3,4,7</sup>	16
Glutamin	573	35	700 <sup>3,4,7</sup>	73
Glutaminsäure	91	9	91 <sup>6</sup>	12
Prolin	?		553 <sup>3,4,6</sup>	26
Citrullin	55	5	56 <sup>5</sup>	9
Glycin	191 <sup>1,2</sup>	25	83 <sup>3,4,5,6,7</sup>	13
Alanin	402 <sup>1,2</sup>	40	691 <sup>3,4,5,6,7</sup>	125
Valin	158	18	182 <sup>3,4</sup>	24
Methionin	57	7	151 <sup>3,4,5,6,7</sup>	22
Isoleucin	75	7	78	13
Leucin	128	12	147 <sup>3</sup>	23
Tyrosin	71 <sup>1,2</sup>	8	78 <sup>3,4,5,6</sup>	8
Phenylalanin	58	3	59	6
Ornithin	58	16	74	27
Lysin	287	27	340 <sup>6</sup>	53
Histidin	60 <sup>2</sup>	5	77 <sup>3,7</sup>	10
Tryptophon	46	7	42 <sup>6</sup>	11
Arginin	128	21	38 <sup>3,4,5,7</sup>	37

<sup>1</sup> E : A (Tab. 3)  $p < 0,01$

<sup>4</sup> F : B (Tab. 3)  $p < 0,01$

<sup>7</sup> F : E  $p < 0,01$

<sup>2</sup> E : B (Tab. 3)  $p < 0,01$

<sup>5</sup> F : C (Tab. 3)  $p < 0,01$

<sup>3</sup> F : A (Tab. 3)  $p < 0,01$

<sup>6</sup> F : D (Tab. 3)  $p < 0,01$

X = Mittelwert

SD = Standardabweichung

trollen am 1. und 29. Versuchstag der Serie 1 (Tab. 3 und 4) abgesunken waren, stiegen parallel die ebenfalls zuvor bereits statistisch erhöhten Plasma-Methionin-Konzentrationen weiter um ca. 100 % (jeweils  $P < 0,01$ ) an.

Die in Serie 2 bereits ab dem 29. Versuchstag erniedrigten Plasma-Ariginin-Konzentrationen (jeweils  $P < 0,005$ ) sind unmittelbar nach dem Schwimmtest statistisch signifikant sehr deutlich weiter abgesunken. Es wurden damit Plasma-Ariginin-Werte erreicht, die nur noch 26 % der Kontrollwerte vom 1. und 29. Versuchstag der Serie 1 betragen (Tab. 3 und 4).

## Diskussion

Thiamin ist als Thiamin-Pyrophosphat ein Koenzym der Alpha-Ketoglutarat-, Pyruvat- und p-Hydroxy-Phenylpyruvat-Decarboxylase sowie der

Oxydationssysteme zur oxydativen Decarboxylierung der nach Transamierung verzweigkettiger Aminosäuren entstehenden Alpha-Ketosäuren. Thiaminmangelzustände führen nachweislich (1, 3, 8, 14, 15, 16) zu schweren Störungen im Abbau von Alpha-Ketoglutarsäure, Pyruvat und p-Hydroxyphenylpyruvat. Unter solchen Bedingungen ist das Ausmaß möglicher Kohlenhydratstoffwechselstörungen außer von aktuellen Kohlenhydratzufuhrn entscheidend von Belastungen des Energiehaushalts abhängig (1, 3, 8, 12, 14).

Nun trennt bekanntlich mit Ausnahme der schwefelhaltigen und basischen Aminosäuren in Synthese und Abbau nur ein Enzymschritt den Kohlenhydrat- (spezifische Ketosäuren) und Aminosäurenstoffwechsel. Im Thiaminmangel müssen daher parallele Störungen der Homöostase der jeweils zugeordneten Aminosäuren angenommen werden. Indes liegen hierzu bisher nur Einzelbefunde in der Literatur (8, 9, 11, 12) vor.

Es sollten daher in einer tierexperimentellen Studie parallel die möglichen metabolischen Wirkungen eines definierten Thiaminmangels auf die extrazelluläre Homöostase von Lactat, Säuren-Basen-Haushalt und Aminosäuren unter Norm- und Belastungsbedingungen geprüft werden.

In der vorliegenden Studie war die Thiaminzufuhr, welche in Serie 1 sicher bedarfsdeckend, in Serie 2 extrem mangelhaft gewählt wurde, der einzige variable Faktor. Nach Literaturangaben (1) beträgt die biologische Halbwertszeit von Thiamin 9,5 bis 18,5 Tage. Es darf daher angenommen werden, daß alle zu oder nach diesem Zeitpunkt in Serie 2 gegenüber gleichen Versuchsabschnitten von Serie 1 veränderten Meßwerte des Kohlenhydrat- und Aminosäurenstoffwechsels direkt oder indirekt durch Thiaminmangel verursacht wurden.

Thiamin-Pyrophosphat ist ein Koenzym der Pyruvat-Decarboxylase. Sein Mangel muß zu Störungen der oxydativen Decarboxylierung von Pyruvat mit konsekutivem Pyruvatstau, vermehrter Bildung und verminderter Abbau von Lactat führen (3, 14, 16). Denn Lactat kann bekanntlich nur über Pyruvat synthetisiert und abgebaut werden.

Die bei allen Ratten unserer Versuchsserie 2 (Thiaminmangelernährung) ab dem 17. Versuchstag bis zum Versuchsende am 56. Versuchstag gemessenen, statistisch gesicherten Hyperlaktatämien stimmen gut mit den Ergebnissen zahlreicher Voruntersuchungen (3, 14) überein. Diese Hyperlaktatämien können somit ausschließlich indirekt auf den in Serie 2 experimentell erzeugten Mangel an Pyruvat-Codecarboxylase (Thiamin-Pyrophosphat) bezogen werden.

Muskuläre Arbeit erhöht physiologischerweise den Eflux von Pyruvat, Lactat und Alanin aus der Skelettmuskulatur (5, 6). Nun bedingte die Muskelarbeit im Schwimmtest bei den normal ernährten Ratten (Serie 1) mit 13,8 mg% nur mäßiggradige Hyperlaktatämien und war somit so dosiert, daß muskuläre Produktionen und Efflux von Lactat und Pyruvat deren aktuelle hepatische Metabolisierung nur geringgradig überstieg. Es darf angenommen werden, daß die bedrohliche, gegenüber allen Meßwerten der Serie 1 und den übrigen Meßwerten der Serie 2 statistisch gesicherte Laktazidose, die am Ende des Schwimmtestes bei allen Tieren der Versuchsserie 2 gemessen wurde, zwar durch die Muskelarbeit ausgelöst, nicht aber durch einen zugeordneten physiologischen muskulären Efflux von Lactat und Pyruvat entscheidend verursacht wurde.

Physiologischerweise gewinnt der Organismus wesentliche Energie-mengen in der Endoxydation von Pyruvat im Tricarbonsäurezyklus, welcher Stoffwechselweg bei schwerwiegendem Mangel an Thiamin-Pyro-phosphat weitgehend blockiert ist. In solcher Stoffwechselsituation muß die aktuell endogen erforderliche Energie u. a. durch einen gesteigerten Abbau von Glucose zu Pyruvat bereitgestellt werden, welcher Abbau bei energetisch nur geringer Effizienz hohe Substratumsätze voraussetzt. Es darf somit angenommen werden, daß die bei den extrem thiaminarm ernährten Ratten (Serie 2) unmittelbar nach dem Schwimmtest nachgewiesene extreme Hyperlaktatämie entscheidend indirekt über eine gestei-gerte Pyruvatproduktion im Rahmen der energetischen Belastung bei vorbestehender Pyruvatverwertungsstörung verursacht worden ist. Bei der sich als Folge der extrem Hyperlaktatämien entwickelnden bedrohli-chen Laktazidose könnten möglicherweise Störungen im Sauerstofftrans-port (10), die hier primär durch Mangel an Pyruvat-Cocarboxylase bedingte Verwertungsstörung von Pyruvat und damit auch von Lactat weiter gesteigert haben.

Felig et al. (3, 5, 6) konnten experimentell nachweisen, daß unter Ruhe- und Belastungsbedingungen eine lineare Korrelation zwischen dem muskulären Efflux von Alanin und Pyruvat besteht, welche selbst während unterschiedlich verursachter Laktazidosen des Menschen (13) unverändert erhalten bleibt. Aufgrund der Ergebnisse von Leberperfusionsstu-dien derselben Autoren (13) muß angenommen werden, daß ein parallel erhöhtes Angebot von Pyruvat und Lactat an die Leber die hepatische Aufnahme besonders von Alanin, daneben u. a. auch von Tyrosin redu-ziert. Die bei den normal ernährten Tieren (Versuchsserie 1) am Ende des Schwimmtestes statistisch signifikant erhöhten Plasmakonzentrationen von Alanin können ausschließlich direkt und indirekt, die von Tyrosin möglicherweise indirekt auf diese physiologischen Regelungsmechanis-men bezogen werden.

Wie Veneciale et al. (18) in Perfusionsstudien an isolierten Rattenlebern zeigen konnten, wird das Kohlenhydratskelett von Serin oberhalb von Pyruvat in den gluconeogenetischen Stoffwechsel eingeschleust. Bedenkt man nun darüber hinaus einerseits die von Felig und Wahren (7) experi-mentell gesicherte Nettoaufnahme von Serin durch die Skelettmuskula-tur, andererseits die enge metabolische Beziehung zwischen Serin und Glycin, könnte die bei den normal ernährten Ratten (Serie 1) am Ende des Schwimmtestes nachgewiesenen, statistisch signifikant erniedrigten Plas-makonzentrationen von Glycin bei den parallel deutlich, statistisch aller-dings nicht gesichert erniedrigten Plasmakonzentrationen von Serin mög-licherweise indirekt durch eine gesteigerte muskuläre Extraktion von Serin mitverursacht worden sein.

Bei identischer Muskelarbeit im genormten Schwimmtest können sol-che physiologischen Regelungsmechanismen die sowohl absolut als auch relativ sehr deutlich ausgeprägt und statistisch gesichert veränderten Plasmakonzentrationen von Alanin und Glycin, die am Ende des Schwimmtestes bei unseren thiaminarm ernährten Ratten (Serie 2) gemessen wurden, ausschließlich nicht erklären. Diese Befunde sollen parallel zu extrazellulären Homöostasestörungen zahlreicher weiterer Aminosäuren unter dem experimentell erzeugten Thiaminmangel (Serie

2) weiter unten diskutiert werden.

Die bei den Tieren von Versuchsserie 2 (Thiaminmangelernährung) vom 29., spätestens aber bei Versuchsende am 56. Versuchstag im Portalvenenblut parallel zur Hyperlaktatämie registrierten, sehr deutlich und statistisch signifikant erhöhten Plasmakonzentrationen von Alanin, Glutaminsäure, Glutamin, Threonin, Methionin und Taurin, die geringgradig nicht durchgehend statistisch gesichert erhöhten Konzentrationen von Valin, Isoleucin, Leucin und Histidin sowie die sehr deutlich und statistisch signifikant abgesunkene Plasmakonzentration von Arginin stimmen gut mit Befunden überein, die andere Autoren (9, 11, 13, 17) an Menschen während unterschiedlich verursachter Laktazidosen im peripheren Venenblut gemessen haben. Diese Gleichartigkeit in der Aminosäurenhomöostasestörung während unterschiedlich verursachter Hyperlaktatämien von Mensch (9, 11, 13, 17) und Tier läßt ursächlich an eine identische zentrale metabolische Störung denken. Die Gleichartigkeit bezieht sich dabei nicht nur auf unterschiedliche Spezies, sondern auch auf Meßwerte, die prä- und posttherapeutisch gewonnen wurden. Als zentraler Ort der beschriebenen metabolischen Störung muß die Leber angenommen werden.

Die Pyruvatverwertungsstörung könnte auch für die Mehrzahl der bei unterschiedlich verursachten Laktazidosen beobachteten Aminosäurenstoffwechselstörungen von zentraler Bedeutung sein. Denn schwerwiegende Pyruvatverwertungsstörungen sollten nicht nur zu Störungen in Abbau und Synthese jener Aminosäuren führen, welche direkt über Pyruvat metabolisiert werden, sondern darüber hinaus auch zu Störungen in Abbau und Synthese aller jener Aminosäuren, deren spezifische Ketosäuren über Substrate des Tricarbonsäurezyklus metabolisiert werden.

So können die in unserer tierexperimentellen Studie nach 29 bis 56 Tagen einer Thiaminmangelernährung (Serie 2) deutlich und statistisch gesichert erhöhten Plasmakonzentrationen von Asparagin, Alanin, Threonin, Glutaminsäure, Glutamin, Histidin, Valin, Isoleucin und Methionin direkt und indirekt auf die in dieser Studie durch Thiaminmangel bedingte Verwertungsstörung von Pyruvat mit konsekutiven Störungen des Tricarbonsäurezyklus, daneben auf Störungen im Thiamin-Pyrophosphat-abhängigen Abbau von Alpha-Ketoglutarat sowie von Alpha-Keto-Isovaleriat, Alpha-Keto-Beta-Methylvaleriat und Alpha-Keto-Isokapronat bezogen werden.

Auch Prolin wird über Alpha-Ketoglutsäure abgebaut. Die in unserer Studie unter der extrem thiaminarmen Kost (Serie 2) unmittelbar nach dem Schwimmtest sehr deutlich und gegenüber allen Meßwerten der Serie 1 und 2 statistisch gesicherten Hyperprolinämie stimmt gut mit jenen Hyperprolinämien überein, welche bei unterschiedlich verursachten bedrohlichen Laktazidosen des Menschen von verschiedenen Autoren (11, 13) beobachtet wurden. Eine qualitativ identische Regulation auch des Prolinstoffwechsels bei ätiologisch unterschiedlich verursachten Laktazidosen von Mensch und Tier kann angenommen werden.

Betrachtet man die Pyruvatverwertungsstörung als die zentrale Ursache sowohl der Hyperlaktatämien und Laktazidosen als auch der diskutierten parallelen Aminosäurenhomöostasestörung, überrascht es nicht, daß bei den Tieren unserer Versuchsserie 2, bei denen sich unter einer 56tägigen

extrem thiaminarmen Kost Hyperlaktatämien entwickelt hatten, ebenso wie bei unterschiedlich verursachten Laktazidosen des Menschen (11, 13, 17) die Plasmakonzentrationen von Glycin und Serin nur geringgradig oder ausschließlich außerhalb energetischer Belastungen erhöht wurden. Denn bekanntlich werden Serin und Glycin u. a. über 3-Glycerophosphat, Glyoxylsäuremaleat, im Amino-Aceton- und Succinat-Glycin-Zyklus abgebaut.

Physiologischerweise erniedrigt muskuläre Arbeit die Serumkonzentrationen von Serin und Glycin. Bei der Vielzahl möglicher – Thiamin-Pyrophosphat-unabhängiger – Stoffwechselwege könnten die unter einer identischen muskulären Arbeit bei parallelem Thiaminmangel (Serie 2) gegenüber den Werten der normal ernährten Tiere (Serie 1) sehr viel deutlicher und statistisch gesichert abgesenkten Plasmakonzentrationen von Serin und besonders Glycin durch einen vermehrten endogenen Verbrauch dieser Aminosäuren bedingt worden sein.

In guter Übereinstimmung mit Befunden bei ätiologisch unterschiedlich verursachten Laktazidosen des Menschen (11, 13, 17) sanken bei den thiaminarm ernährten Tieren unserer Versuchsserie 2 parallel zur Ausbildung von Hyperlactatämien die Plasmakonzentration von Arginin sehr deutlich und statistisch gesichert ab, während die Serumkonzentrationen von Ornithin und Citrullin weitgehend unverändert im Normbereich blieben. Eine Störung im Krebs-Henseleit-Zyklus erscheint wahrscheinlich.

Die p-Hydroxy-Phenylpyruvat-Decarboxylase ist thiaminabhängig. Bereits 1938 konnten Closs und Fölling (4) bei Vitamin-B<sub>1</sub>-mangelernährten Ratten erhöhte Phenylpyruvatausscheidungen im Urin nachweisen. Der in unserer Studie auch am 56. Tag einer Thiaminmangelernährung fehlende Nachweis einer gestörten Homöostase von Phenylalanin und Tyrosin ist möglicherweise u. a. auf die prähepatische Blutentnahme (Vena portae) zu beziehen.

Besondere Bedingungen scheinen im Stoffwechsel der schwefelhaltigen Aminosäuren gegeben. Die parallel zu unterschiedlich verursachten Laktazidosen des Menschen (13) auch bei den Ratten unserer experimentellen Studie (Serie 2), die unter einer 56tägigen Thiaminmangelernährung deutliche und statistisch gesicherte Hyperlaktatämien entwickelt hatten, sehr deutlich und statistisch signifikant erhöhten Plasmakonzentrationen von Taurin wurden durch den Schwimmtest – im Gegensatz zu den Kontrollen von Serie 1 – um annähernd 50 % auf Normwerte abgesenkt, parallel die bereits zuvor statistisch signifikant erhöhten Methionin-Plasma-Konzentrationen entscheidend weiter erhöht. Sehr deutlich erniedrigte Serum-Taurin-Konzentrationen wurden von Sussman et al. (17) bei einem Patienten mit chronischer hereditärer Laktazidose und von uns bei einem Patienten mit einer durch Thiaminmangel bedingten bedrohlichen Laktazidose (11) beobachtet. Eine Störung des Transsulfuration-Pathway erscheint wahrscheinlich.

#### Literatur

1. Bässler KH, Lang K (1981) Vitamine. 2. Aufl, Steinkopff, Darmstadt. S 34–37
2. Blennow H (1975) Wernicke's encephalopathy following prolonged artificial nutrition. Amer Dis Child 129:1456

3. Brin M (1967) Functional evaluation of nutritional status: thiamine. In: Albanese AA (ed) Newer methods of nutritional biochemistry, vol III. Academic Press, New York London, p 407–436
4. Closs K, Fölling A (1938) Über das Verhalten von Phenylbrenztraubensäure im Harn der weißen Ratte bei Vitamin-B-Mangel. Z physiol Chem 254:258–265
5. Felig P, Wahren J (1970) Evidence for a glucose-alanine cycle: amino acid metabolism during muscular exercise. J Clin Invest 49:282
6. Felig P, Wahren J (1971) Amino acid metabolism in exercising man. J Clin Invest 50:2703–2714
7. Felig P, Wahren J (1971) Interrelationship between amino acid and carbohydrate metabolism during exercise. The glucose-alanine cycle. In: Pernow B, Sahin B (eds) Muscle metabolism during exercise. Plenum Press, New York, p 143
8. Förster H (1978) Grundlagen der Ernährung und Diätetik. Govi-Verlag, Frankfurt/M, S 46–47
9. Gagnon-Brunette M, Hasel B, Scriver CR (1969) Thiamine dependent neonatal lactic acidosis. Clin Res 17:659
10. Grünert A (1981) Laktathomöostase. Klinikarzt 10: 743–744
11. Jürgens P, Schwartau M, Doebe M (1982) Aminosäurenstoffwechselstörung bei einem Patienten mit gesichertem Thiaminmangel. Infusionsther 9:312–316
12. Lonsdale D (1978) Wernicke's encephalopathy and hyperalimentation. JAMA 239:1133
13. Marliss EB, Aoki TT, Toews CJ, Felig P, Connon JJ, Kyner J, Huckabee WE, Cahill GF (1972) Amino acid metabolism in lactic acidosis. Amer J Med 52:474–481
14. Peters JP, van Slyke DD (1946) Quantitative clinical chemistry, vol I. Williams & Wilkins, Baltimore, p 208–251
15. Simola PE (1939) Untersuchungen über die Beziehung der B-Vitamingruppe zu dem Stoffwechsel von Ketoverbindungen. Biochem Z 302:84–102
16. Stotz E, Bessey OA (1942) The blood lactate-pyruvate relation and its use in experimental thiamine deficiency in pigeons. J Biol Chem 143:625–631
17. Sussman KE, Alfrey A, Kirsch WM, Zweig P, Felig P, Messner F (1970) Chronic lactic acidosis in an adult. Amer J Med 48:104–112
18. Veneziale CM, Gabrielli F, Kneer N, Lardy HA (1969) Gluconeogenesis from L-serine in isolated perfused rat livers. Fed Proc 28:411–415

Eingegangen 25. Mai 1984

Für die Verfasser:

Dr. med. P. Jürgens, I. med. Abteilung, AK St. Georg, Lohmühlenstraße 5,  
2000 Hamburg 1