

Intermediärer Stoffwechsel und Alter, 5. Mitt.^{1,2}:

Untersuchungen über den Aminosäuregehalt menschlichen
und tierischen Blutes in Abhängigkeit vom Alter

Von

R. Riemschneider

Aus dem Institut für Biochemie der Freien Universität Berlin³

Mit 7 Abbildungen

(Eingegangen am 2. Oktober 1963)

Ein Vergleich des durchschnittlichen Aminosäuregehaltes im Blute junger und alter Menschen hat ergeben, daß der Glutaminsäure- und Cystingehalt im Alter erhöht sind, während alle übrigen Aminosäuren in verminderter Menge gefunden werden. Analoge altersabhängige Veränderungen im Aminosäuregehalt wurden auch bei der Untersuchung tierischen Blutes festgestellt; dabei dienten Ratten, Meerschweinchen und Schweine als Versuchstiere. Eine länger dauernde Verabreichung von Cystein oder Serin machte, insbesondere bei gleichzeitigen Gaben von Vitaminen des B-Komplexes, die altersbedingten Veränderungen im Aminosäuregehalt des Blutes rückgängig⁴.

Zu Untersuchungen über eine „Altersabhängigkeit von Vorgängen des intermediären Stoffwechsels“ haben uns u. a. folgende Beobachtungen und Tatsachen geführt: Bei Zuchtversuchen mit weißen Mäusen fanden wir, daß das Geschlechtsverhältnis der Jungen *vor* der Paarung der Tiere durch gewisse Mangelzustände beeinflußt werden kann⁵, wobei das Alter der Mäuse eine Rolle spielt. Im Rahmen von Untersuchungen über die Schutzwirkung von Verbindungen mit aktiven und potentiellen SH-Gruppen gegen ionisierende Strahlen interessierte uns die Beob-

¹ R. Riemschneider, 1. Mitt.: Vorträge vom 1. März 1958 und 5. Mai 1959; R. Riemschneider, O. Göhring und E. Frömming, 2. und 3. Mitt.: Z. Naturforsch. **16 b**, 142, 704 (1961); 4. Mitt., unveröffentlicht.

² Gleichzeitig 11. Mitt. über Aminosäuren.

³ Anschrift für den Schriftverkehr: Prof. Dr. R. Riemschneider, Berlin 19, Bolivarallee 8.

⁴ Vgl. Kurzmitteilungen und Vorträge l. c. ¹.

⁵ R. Riemschneider und J. Hein, unveröffentlicht.

achtung, daß Cystein-Applikation den im Alter erhöhten Methionin- und Cystingehalt des Blutserums weißer Ratten herabzusetzen vermag^{1, 6, 7}. Da die Asparaginsäure in den intermediären Stoffwechsel der S-haltigen Aminosäuren verwickelt ist, haben wir geprüft, ob sich auch bei dieser Aminosäure im Alter eine Gehaltsänderung im Blutserum weißer Ratten zeigt und ob diese Veränderung durch Cysteingaben kompensiert werden kann. Verbindungen, die konstitutionell der Asparagin-, Glutamin- und anderen Aminosäuren nahestehen, hatten wir schon vorher zur Beeinflussung von Stoffwechselfvorgängen herangezogen — hier allerdings mit dem Ziel, Prozesse auszulösen, die den Eiweißhaushalt stören⁸. Bei der Bestimmung des Tryptophangehaltes der Blutseren von Meerschweinchen und Ratten verschiedenen Alters beobachteten wir 1957 in unserem Laboratorium zwar keine außerhalb der Fehlergrenzen liegenden Gehaltsänderungen, jedoch zeigte sich zuweilen eine beträchtliche Zunahme der Werte, und zwar bis zu 25% nach Cystein-Applikation, in Abhängigkeit von der Ernährung der Versuchstiere. Eine genaue Untersuchung ergab, daß ein Zusammenhang mit dem Vitamin B-Komplex^{9, 10, 11}, insbesondere mit der Vitamin-B₁₂-Zufuhr zu bestehen scheint. Die sich aus diesen und anderen Untersuchungen von selbst ergebende Frage nach einer Altersabhängigkeit des Gehaltes *aller* am Aufbau von Eiweißkörpern beteiligten Aminosäuren haben wir eingehend studiert und positiv entscheiden können¹: Sowohl für den Gesamtaminosäuregehalt der menschlichen und der tierischen Blutseren als auch für den Gehalt der untersuchten Blutseren an freien Aminosäuren fanden wir Unterschiede zwischen jungen, wachsenden und alten Organismen: Abb. 1—7.

Unsere Ergebnisse stehen zum Teil in guter Übereinstimmung mit den uns inzwischen bekanntgewordenen Resultaten der rumänischen Arbeitsgruppe unter *S. Oeriu* und *J. Tanase*¹². Hinsichtlich der Thematik „Vitamin und Vitamineinfluß im Alter“ sei auf die zusammenfassenden Darstellungen von *Lüth*¹⁰ und *Rosie*¹¹ sowie die Untersuchungen von *Mills*¹³, *Tauber* und Mitarbeitern⁹ sowie *Stieglitz*¹⁴ und *Wilton*¹⁵ verwiesen.

⁶ *R. Riemschneider*, *Z. Naturforsch.* **16 b**, 75 (1961).

⁷ *C. I. Parhon*, *S. Oeriu*, 4th Congr. international Assoc. Gerontology, Meran, Juli 1957.

⁸ 2. Mitt. 1. c.¹ und *R. Riemschneider* und *H. Pehlmann*, *Z. Naturforsch.* (in Druck).

⁹ *S. A. Tauber*, *R. S. Goodhart*, *J. M. Hsu*, *N. Blumberg*, *J. Kassak* und *B. F. Chow*, *Geriatrics* **11**, 369 (1957).

¹⁰ *P. Lüth*, *Wissenschaftl. Berichte E. Merck*, Darmstadt, Bd. 2, 1961.

¹¹ *R. H. Rosie*, *Wissenschaftl. Berichte E. Merck*, Darmstadt, Bd. 1, 1960.

¹² *S. Oeriu* und *J. Tanase*, *Studii și cercetări de Biochimie* **3**, 300 (1961).

¹³ *C. A. Mills*, *Amer. J. physiol.* **31**, 153 (1948).

¹⁴ *E. J. Stieglitz*, *J. theor. Medic. Ass.* **142**, 1070 (1942).

¹⁵ *A. E. Wilton*, *Acta pathomicrobiol. Scand.* **8**, 258 (1931).

Unsere Ergebnisse der Untersuchungen *menschlicher Blutseren* sind in Abb. 1—3 zusammengestellt⁴.

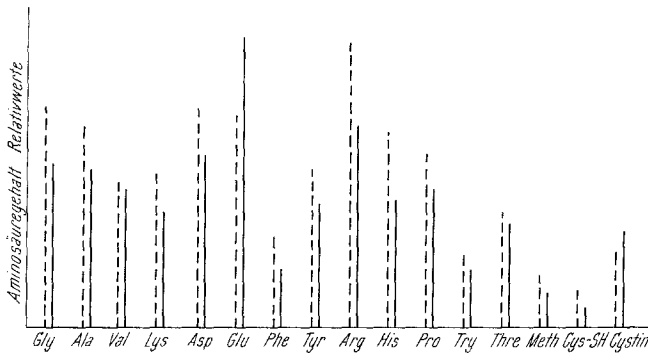


Abb. 1. Aminosäuregehalt des menschlichen Blutserums in Abhängigkeit vom Alter
 - - - - - Alter: 7—12 Jahre ——— Alter: 70—84 Jahre

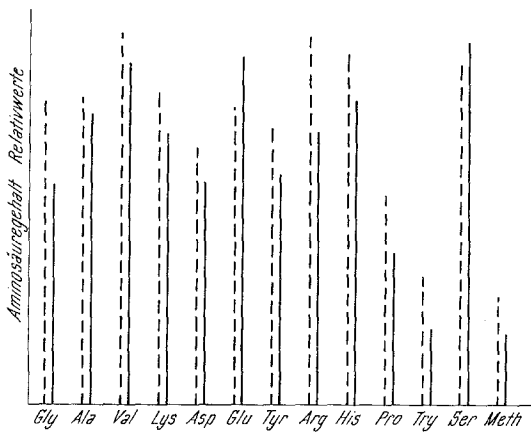


Abb. 2. Aminosäuregehalt des menschlichen Blutes (Gesamtblut) in Abhängigkeit vom Alter
 - - - - - Alter: 7—12 Jahre ——— Alter: 70—84 Jahre

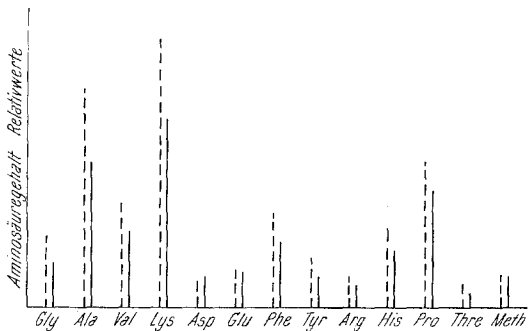


Abb. 3. Freie Aminosäuren im menschlichen Blutserum in Abhängigkeit vom Alter
 - - - - - Alter: 7—12 Jahre ——— Alter: 70—84 Jahre

Dank der freundlichen Unterstützung zahlreicher Fachkollegen war es uns möglich, eine ausreichende Anzahl von Blutproben (ca. 2000) von 8- bis 12jährigen Kindern und von Personen, deren Alter zwischen 70 und 84 Jahren lag, zu erhalten.

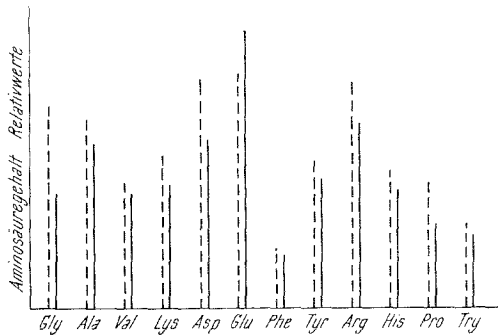


Abb. 4. Aminosäuregehalt des Schweineserums in Abhängigkeit vom Alter
 - - - - - junge Tiere ——— alte Tiere

In Abb. 1 sind die Relativwerte* des Gehaltes der wichtigsten Aminosäuren von Blutseren junger und alter Menschen gegenübergestellt (Gesamtaminosäuregehalt). Wie im Exper. Teil der Arbeit ausgeführt,

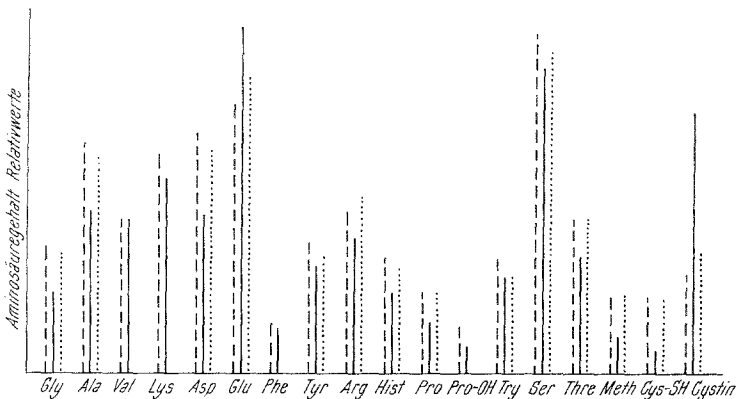


Abb. 5. Aminosäuregehalt des Serums weißer Ratten in Abhängigkeit vom Alter, und Beeinflussung durch Cystein + Vit.-B-Komplex

- - - - - junge Ratten (3-4 Mon.) ——— alte Ratten (17-21 Mon.)
 alte Ratten (17-21 Mon.), mit Cystein + Vit.-B-Komplex behandelt

wurden die Blutseren zunächst hydrolysiert und dann der Aminosäurebestimmung unterworfen. Die Untersuchungen ergaben, daß im Alter der Glutaminsäure- und Cystingehalt erhöht sind, während alle anderen

* In Abb. 1, 2, 4, 5 und 7 ist der Aminosäuregehalt in g pro 1000 g angegeben, in Abb. 3 und 6 sind mg% gemeint. Zahlenwerte laufen in allen Abb. von 1 bis 10.

Aminosäuren im Blutserum der alten Menschen in geringeren Mengen gefunden werden. Nur hinsichtlich des Serins kamen wir nicht zu eindeutigen

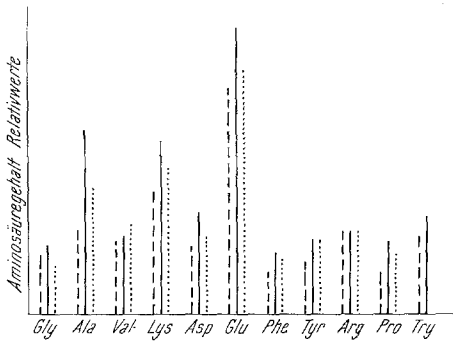


Abb. 6. Freie Aminosäuren im Serum weißer Ratten in Abhängigkeit vom Alter, und Beeinflussung durch Cystein + Vit.-B-Komplex

— — — — — junge Ratten (3-4 Mon.)
 — — — — — alte Ratten (17-21 Mon.)
 alte Ratten (17-21 Mon.), mit Cystein + Vit.-B-Komplex behandelt

haben wir davon abgesehen, im Plasma alle Aminosäuren zu bestimmen.

Auch unsere Untersuchungen über die Konzentration der freien Aminosäuren im menschlichen Blutserum ergaben im wesentlichen einen Konzentrationsabfall mit zunehmendem Alter: Abb. 3.

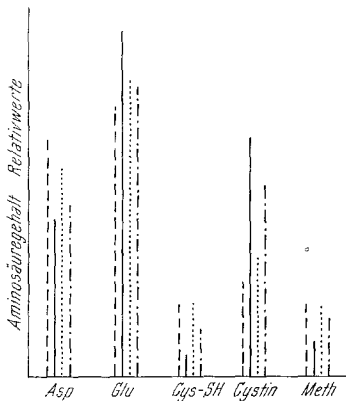


Abb. 7. Aminosäuregehalt des Serums weißer Ratten in Abhängigkeit vom Alter, und Beeinflussung durch Cystein bzw. Serin

— — — — — junge Ratten (3-4 Mon.)
 — — — — — alte Ratten (17-21 Mon.)
 alte Ratten (17-21 Mon.), mit Cystein behandelt
 - - - - - alte Ratten (17-21 Mon.), mit Serin behandelt

alten weißen Ratten Cystein + Vitamin-B-Komplex verabreicht und dann erneut den Aminosäuregehalt des Blutserums bestimmt. Die in Abb. 5 zusammengestellten Ergebnisse zeigen, daß unter diesen Bedingungen

Resultaten. Während die Voruntersuchungen¹ gezeigt hatten, daß der Seringehalt abnimmt, liegen nun auch völlig umgekehrte Befunde vor.

In Parallele zu den in Abb. 1 wiedergegebenen Versuchen stehen die Untersuchungen über den Aminosäuregehalt des menschlichen Gesamtblutes, zusammengestellt in Abb. 2: Abnahme der Aminosäurewerte im Alter, ausgenommen Glutaminsäure und Serin. Auf Grund dieser weitgehenden Übereinstimmung

Hinsichtlich der *Versuche an Tieren* sei mitgeteilt⁴: Entsprechende Untersuchungen an Seren von Schweinen, Ratten (Abb. 4, 5) und Meerschweinchen ergaben — soweit bisher geprüft — einen höheren Aminosäuregehalt für junge Tiere, ausgenommen auch hier Glutaminsäure und Cystin. Ausgehend von den eingangs geschilderten Beobachtungen über den Effekt von Cystein + Vitamin-B-Komplex auf die Tryptophanwerte sowie dem Einfluß von Cystein auf den Methionin- und den Asparaginsäuregehalt und ausgehend vom Schrifttum^{11, 9}, haben wir

eine gewisse „Normalisierung“ der Aminosäurewerte erreicht werden kann, die einige Zeit anhält. Wir haben auch den Einfluß der Verabreichung von Serin + Vitamin-B-Komplex studiert und Veränderungen der Aminosäuren festgestellt, wie sie auch im Falle der Gabe von Cystein + Vitamin-B erfolgt sind.

Auch Cystein oder Serin allein reichen in manchen Fällen aus, eine „Normalisierung“ der Aminosäurewerte zu erreichen: Abb. 7.

Die Veränderung der freien Aminosäuren im Serum weißer Ratten ist in Abb. 6 dargestellt. Hier ist „Normalisierung“ durch Gaben von Cystein + Vitamin-B-Komplex festzustellen.

Experimenteller Teil

Zur Bestimmung des Aminosäuregehaltes von Blut und Seren wurden 2 ccm jeder Probe hydrolysiert und zur Trockne gebracht. Nach Aufnehmen mit 8 ccm 0,75 *n* NH₃, Verdünnen auf 25 ccm und Extrahieren mit Äther wurden die Aminosäuren papierchromatographisch in üblicher Weise getrennt. Zur quantitativen Bestimmung verfahren wir gemäß Angaben von *Stegemann*¹⁶.

In entsprechender Weise haben wir auch den Gehalt der Blutseren an freien Aminosäuren bestimmt. Der Vorbereitung der Proben ging die Abtrennung der Eiweißkörper voraus. Die vom Protein befreiten und zur Trockne gebrachten Proben wurden mit 0,75 *n* NH₃ aufgenommen, entsprechend ihrer wesentlich geringen Aminosäurekonzentration mit 1/5 bis 1/10 der oben angegebenen Menge.

Die in den Abb. angegebenen Zahlen sind Mittelwerte von je 20 Bestimmungen. In jedem Fall wurden gleich viele junge und alte Versuchstiere herangezogen. Insgesamt sind in den Jahren 1956—1961 Blutproben von mehr als 2000 Ratten untersucht worden.

Die Applikation von Cystein, von Serin und von Cystein + Vitamin-B-Komplex erfolgte im allgemeinen über eine Dauer von 28 Tagen, und zwar Cystein bzw. Serin 40 γ /g Versuchstier täglich, peroral und/oder intramuskulär.

Die zugeführten Vitamin-B-Komplexmengen betragen 2 γ /g Versuchstier, enthaltend die Vitamine B₁ + B₆, Folsäure, B₁₂ im Verhältnis von 20000:500:3. Die angegebenen Vitaminkonzentrationen gelten auch für die Fälle, in denen ein bestimmtes Vitamin der B-Reihe mit Cystein zusammen verabreicht wurde.

Wie bereits erwähnt, wurden Blutproben von Personen verwendet, deren Alter zwischen 7 und 12 bzw. 70 und 84 Jahren lag, und die unter ärztlicher Kontrolle standen und als „gesund“ bezeichnet werden konnten. Es kam sehr darauf an, eine Reihe von Krankheiten auszuschließen, die die Beurteilung der Faktoren „jung“ und „alt“ hätten verfälschen können. Präcancerogene Proteine konnten wir durch eigene Untersuchungen mit einer bewährten Spezialmethode mit 95% Sicherheit ausschließen.

Frl. *J. Takei*, Frau *H. Kieseler* und Herrn *E. Frömming* sei an dieser Stelle für die Durchführung der analytischen Bestimmungen (1956—1961)¹ bestens gedankt.

¹⁶ *H. Stegemann*, Z. physiol. Chem. **319**, 87, 102 (1960).