

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde eine HPLC-Methode zur Bestimmung von GABA und anderen Aminosäuren im Plasma und im Gehirngewebe etabliert und in verschiedenen Bereichen der Neuropharmakologie angewendet.

1. Es wurde der Einfluß der GABA-Mimetika Valproinsäure (VPA 200 mg/kg i.p.), Aminooxyessigsäure (AOAA 100 mg/kg i.p.), Gamma-Acetylen-GABA (GAG 100 mg/kg i.p.) und Gamma-Vinyl-GABA (GVG 1200 mg/kg i.p.) auf die Aminosäuremuster in 12 Gehirnregionen und im Plasma der Ratte bestimmt. Die Probengewinnung erfolgte 4 h bzw. bei VPA 15 min nach der Applikation. Die Verabreichung dieser Substanzen in einer etwa äquivalenten, anti-convulsiven Dosis, führte nicht nur zu einer Erhöhung der GABA-Konzentration im Gehirngewebe und, im geringeren Maß, im Plasma, sondern veränderte auch die Konzentration anderer Aminosäuren. Im Plasma verminderte sich, außer bei der VPA-Applikation, die Konzentration der meisten Aminosäuren. Im Gehirngewebe kam es bei der Applikation der Substanzen AOAA, GAG und GVG besonders bei den Aminosäuren Glutamat, Aspartat und Alanin zu Konzentrationsabnahmen. Bei der Verabreichung von VPA wurde nur bei der Aspartatkonzentration ein Rückgang gemessen, während die Glutamin-konzentration anstieg. Als Ursache dieser Veränderungen kommen unspezifische Enzymveränderungen und Konzentrationsveränderungen durch eine Störung des biochemischen Gleichgewichts, als Folge der Hemmung des GABA-Abbaus, in Betracht. Möglich ist auch eine Kombination dieser Faktoren. Es hat sich bei dieser Untersuchung gezeigt, daß die akuten Veränderungen im Aminosäureprofil bei der als unspezifisch geltenden AOAA vergleichbar sind mit den Substanzen GAG und GVG, die, aufgrund ihres Wirkungsmechanismus, als spezifische GABA-T-Hemmer gelten.

2. Bei dem Vergleich scheinoperierter und gekindelter Ratten - es handelt sich beim Kindling um ein Tiermodell für die komplex-fokale Epilepsie des Menschen - wurden nur geringe Unterschiede im Aminosäureprofil gemessen. In den meisten Regionen kam es zu einer geringen Abnahme der GABA- und der Taurinkonzentration, die bei GABA jedoch nur in Pons / Medulla und

bei Taurin zusätzlich im Thalamus signifikant war. Die Aspartatkonzentration wurde nicht signifikant verändert, und bei der Aminosäure Glutamat kam es nur in Pons / Medulla zu einer statistisch gesicherten Konzentrationsabnahme. Die Daten dieser Untersuchung zeigen, daß eine Veränderung der durch Aminosäuren vermittelten Neurotransmission als Folge des Kindlings möglich ist.

3. Das Aminosäureprofil der dt^{sz}-Hamstermutante - diese Tiere zeigen eine altersabhängige Bewegungsstörung, die möglicherweise als Tiermodell für die idiopathische Dystonie des Menschen geeignet ist - zeigt im Vergleich zu Kontrolltieren einige signifikante Unterschiede. Die Veränderungen in der GABA-Konzentration sind uneinheitlich: der Gehalt ist in den Regionen Thalamus und Cerebellum erhöht und in den Regionen Corpus striatum und Hypothalamus vermindert. Die Taurinkonzentrationen sind außer im Hypothalamus im Vergleich zu Kontrollhamstern leicht erhöht, aber nur in den Regionen Thalamus und Cerebellum signifikant. In einigen Regionen kam es zu Konzentrationsveränderungen bei den Aminosäuren Aspartat, Glutamat und Glutamin. Glycin war in keiner Region signifikant verändert. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, daß eine Störung der durch Aminosäuren vermittelten Neurotransmission in der Pathogenese der Bewegungsstörung bei der dt^{sz}-Hamstermutante involviert sein könnte.

Summary

Dirk Hörstermann

HPLC-measurement of gamma-aminobutyric acid and other amino acids in brain tissue and in plasma - applications in neuropharmacology - (GABA-T-inhibitors, dt^{sz}-mutant hamster and amygdala-kindling in rats)

In the present study, a HPLC-method for the measurement of gamma-aminobutyric acid and other amino acids in brain tissue and in plasma was established, and this method was used for some applications in neuropharmacology.

1. The influence of the GABA-mimetics valproic acid (VPA 200 mg/kg i.p.), gamma-acetylen-GABA (GAG 100 mg/kg i.p.), and gamma-vinyl-GABA (GVG 1200 mg/kg i.p.) on the amino acid profile in 12 discrete brain regions and in plasma of the rat was determined. The sample preparation was done 4 h (except VPA with 15 min) after the application. The administration of these substances in about equivalent anticonvulsive doses did not lead only to a rise of GABA in brain tissue and in plasma, but it also changed the concentrations of other amino acids. In plasma the concentrations of most amino acids were reduced except after administration of VPA. In the brain, the application of AOAA, GAG, and GVG led to a reduced amino acid concentration, especially of glutamate, aspartate, and alanine. The administration of VPA only reduced aspartate and increased glutamine. The possible reasons for these changes in amino acid concentrations are non-specific enzyme alterations or a disturbance in the biochemical equilibrium as a consequence of the block in the GABA-pathway. A combination of these factors is possible. The present study indicates that the acute effects in changing the concentrations of some amino acids in the brain of the so-called unspecific pyridoxalphosphate antagonist AOAA and the "specific GABA-T inhibitors" GAG and GVG are comparable.

2. Kindling is a model of the complex, partial epilepsy in man; by comparison of sham-operated and kindled rats only slight differences in the amino acid profile were found. In most regions, a small reduction in the concentration of GABA and taurine was measured. These decreases were significant only in pons / medulla, and, with respect to taurine, also in the thalamus. The aspartate concentration was not significantly altered, and a significant reduction in the concentration of the amino acid glutamate was measured only in pons / medulla. These data show that a alteration in the amino acidergic - especially in the GABAergic and in the taurinergic - neurotransmission could be a consequence of amygdala-kindling.

3. The dt^{sz}-hamster mutant shows an age dependend motoric disturbance which might be used as a model for the human idiopathic dystonia. The amino acid profile of mutant hamsters is differend from the amino acid profile of the control group. The alterations in the GABA-levels were non-uniform. The GABA content was increased in thalamus and cerebellum, but decreased in striatum and hypothalamus. The taurine concentrations were elevated with the exception of the hypothalamus, but these increases were significant only in thalamus and cerebellum. In some regions there was an alteration in the level of aspartate, glutamate, and glutamine. Glycine was not altered in a significant manner. The results of the present study show that a disturbance in the amino acidergic neurotransmission is possibly involved in the motoric disturbance of the dt^{sz}-mutant.