

4. Diskussion

In den letzten Jahrzehnten wurden viele Studien durchgeführt, deren Ziel es war, die Wirkung von extern verabreichtem NADH sowie dessen Vorläufern NAD⁺ und Nicotinamid auf den Organismus zu untersuchen.

Die Wirkung von NADH wurde unter anderem im Rahmen der Parkinsontherapie (Birkmayer et al., 1989, 1991 und 1993), der Therapie von Depressionen (Birkmayer et al., 1991; Rex et al., 2004a) sowie in Bezug auf Gedächtnisleistung und Lernfähigkeit (Rex et al., 2004b, Yang et al., 2004) erforscht.

Kuhn und Mitarbeiter (1996) berichten nach intravenöser NADH Gabe (10mg/kg) von einer signifikant symptomatischen Verbesserung bei Parkinson Patienten. Die Evaluierung der Symptome vor und nach NADH Gabe erfolgte anhand der Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS). Birkmayer und Mitarbeiter (1993) bestätigen diese Ergebnisse.

Ebenso wurde NADH oral und parenteral (5-20mg/kg) an unter Depression leidenden Patienten verabreicht (Birkmayer et al., 1991). Die durchschnittliche symptomatische Verbesserung betrug 11,5%. Die antidepressive Wirkung von NADH ist durch Verhaltensversuchen an Ratten (Forced Swim Test) (Rex et al., 2004a) belegt. NADH wurde dabei in einer Dosis von 5-100mg/kg intraperitoneal verabreicht. Die durch NADH erzielte Verbesserung im Forced Swim Test entsprach in etwa der Wirkung herkömmlicher Antidepressiva wie beispielsweise Fluoxetin.

Experimentellen Einsatz fand NADH auch auf dem Gebiet des Lernverhaltens. Die Wirkung auf kognitive Leistung wurde im Morris water maze Test an Ratten untersucht. Mit diesem Test wird das räumliche Lernen von Ratten untersucht. NADH in einer Dosis von 10-100mg/kg intraperitoneal verabreicht führte bei älteren Ratten (22 Monate) zu einer verbesserten Lernfähigkeit im Vergleich zu den Kontrolltieren.

Die genannten Forschungsergebnisse sprechen dafür, dass NADH verschiedene Wirkungen im Organismus auslöst. In allen genannten Fällen wird spekuliert, dass der Ort, an dem NADH diese Wirkung auslöst, im ZNS zu finden ist. Es stellt sich daher die Frage, ob und wie NADH vom Organismus aufgenommen wird, bzw. ob es überhaupt nach peripherer Verabreichung in therapeutisch wirksamen Mengen ins ZNS gelangt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen Beitrag zur Aufklärung dieser Fragen zu leisten.

Im ersten Teil der Arbeit untersuchten wir an einem *in vitro* Darmmodell, ob und inwieweit NADH intestinal resorbiert wird. Die Versuche wurden am everted gut sac Modell von Wilson und Wiseman durchgeführt. Der everted gut sac wurde in der Vergangenheit nicht nur zum Studium rein physiologischer Transportprozesse (Wilson und Wiseman, 1954) eingesetzt, sondern auch zur Resorption von Vitaminen (Heard et al., 1986, Hollander et al., 1976),

Hormonen (Farthin et al., 1982), Mineralstoffen (Feinroth et al., 1982) sowie verschiedener Pharmaka, u.a. der Herzglykoside (Forth et al., 1969, Kilic 2004). Der everted gut sac, ob in Originalversion nach Wilson und Wiseman oder in modifizierter Version (z.B. Barthe et al., 1998), ist eines der am häufigsten verwendeten *in vitro* Modelle zur Untersuchung der intestinalen Stoffaufnahme (Di Colo et al., 1980), das bis in die Aktualität Anwendung findet. Beispielsweise zur Untersuchung der Resorption anti-tumoröser Medikamente (Carreno-Gomez et al., 1999), außerdem wird das Modell zur Untersuchung der Absorptionskinetik in präklinischen pharmakologischen Studien empfohlen (Gandia et al., 2004).

Diesem Modell sind jedoch methodische Grenzen gesetzt, die bereits ausführlich auf Seite 39 beschrieben wurden; in erster Linie sei dabei an den fehlenden Blutfluss in der Darmwand erinnert. Viele Autoren setzten sich bereits mit der Frage auseinander, ob der everted gut sac trotz dieser Einschränkung wissenschaftlich akzeptable Versuchsergebnisse liefern kann (Breschi et al., 1981, Plumb et al., 1987, Levine et al., 1970).

In der Diskussion um die Aussagekraft des everted gut sac wurde festgestellt, dass sich die besagte Methode zum Studium der intestinalen Stoffresorption eignet. Die gewonnenen Ergebnisse sind jedoch als qualitative Angaben zu sehen, die lediglich tendenziell eine semi-quantitative Aussage gestatten. Der everted gut sac erlaubt keine Aussage über die involvierten Transportmechanismen.

Aus diesem Grund war es nötig, Bezug zu den Resorptionsquoten anderer Substanzen herzustellen, deren Resorptionseigenschaften bekannt sind, um die Leistungsfähigkeit der Methode zu überprüfen und die Resorptionsquote von NADH besser einordnen zu können.

Als gut resorbierbare Substanz, bei der eine relativ hohe Resorptionsquote zu erwarten war, wählten wir das Benzodiazepin Diazepam, das nach oraler Gabe schnell und praktisch komplett enteral resorbiert wird (Mandelli et al., 1978; Rall, 1991).

Unsere Untersuchungen ergaben, dass Diazepam nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten zu ungefähr 25% im everted gut sac resorbiert wird.

Laut Literaturangaben zeigt Diazepam nach oraler Verabreichung eine Bioverfügbarkeit von 74-100% (Löscher et al., 1981, Roche Fachinformation, 1999, Bellantuono et al., 1980, Mandelli et al., 1978).

Es muss angemerkt werden, dass sich die aus der Literatur zur Verfügung stehenden Angaben ausschließlich auf die systemische Bioverfügbarkeit von Diazepam nach oraler Gabe beziehen, bei der neben der intestinalen Resorptionsquote auch die Magenpassage und ein potentieller First-pass Effekt in der Leber berücksichtigt werden (Fichtl, 2005, siehe auch S. 75)

Ein direkter Vergleich der Literaturangaben mit unseren Ergebnissen gestaltet sich deshalb als relativ kompliziert, weil unsere Versuche *in vitro* durchgeführt wurden, und somit ausschließlich die intestinale Resorptionsquote ermittelt wurde.

Es ist bekannt, dass die pharmakokinetischen Parameter von Diazepam eine große interindividuelle Variabilität aufweisen.

Nach oraler Verabreichung wird Diazepam rasch und nahezu vollständig resorbiert. Maximale Plasmakonzentrationen werden etwa ein bis zwei Stunden nach Applikation erreicht (Brown und Perry, 1973, Leal und Troupin, 1977, Roche Fachinformation, 1999, Bellantuono et al., 1980).

Unsere Versuche mit dem everted gut sac wurden nach dreißig Minuten beendet, da bei länger dauernden Versuchen mit diesem Modell die Integrität des Darmpräparates nicht gesichert werden kann. Auf Grund der kurzen Versuchszeit kann davon ausgegangen werden, dass das Diazepam in der externen Lösung noch nicht vollständig resorbiert werden konnte, so dass ein Wert von circa 25% ein Indikator für eine gute intestinale Resorptionsquote darstellt.

Eine andere mögliche Erklärung unserer Resorptionsquote könnte darin begründet sein, dass wir Versuche mit relativ niedrigen Dosen durchführten (1mg/l), da die Resorptionsquote der Benzodiazepine unter anderem von der angebotenen Dosis abhängt (Friedmann, 1992). Zur Untersuchung der Pharmakokinetik von Diazepam beim Menschen werden in der Regel Dosen von 10-20mg eingesetzt.

Ergänzend muss angemerkt werden, dass die intestinale Resorptionsquote von Diazepam starke individuelle Schwankungen aufweist; Abweichungen bis zu 50% vom Mittelwert wurden beobachtet (Mandelli et al., 1978).

Als intestinal schlecht resorbierbare Substanz wählten wir das polare Herzglykosid g-Strophantin. Strophantin wird beim Menschen enteral kaum resorbiert (0,4 - 4%) (Greeff, 1977, Küttler, 2002).

Neben der bekannten großen interindividuellen Variabilität (Küttler, 2002) spielen auch Speziesunterschiede bei der enteralen Resorption von Strophantin eine Rolle. So wird Strophantin bei Katzen und Hunden nach oraler Gabe zu 5 - 10% resorbiert (Adams, 1995). Die aus der Literatur zur Verfügung stehenden Angaben zur Resorptionsquote von Strophantin differieren in Abhängigkeit der verwendeten Methode, der angebotenen Konzentration und der Inkubationszeit. Forth und Mitarbeiter (1969b) führten Untersuchungen an abgebundenen Jejunumsegmenten der Ratte durch; in diesem Fall betrug die Resorptionsquote von Strophantin 24%. In weiteren Untersuchungen an isolierten

und von einer Strophantinlösung durchströmten Jejunumschlingen *in vitro* sowie an abgebundenen Jejunumsegmenten der Ratte *in vivo* wurden geringere Resorptionsraten nachgewiesen (Forth und Rummel, 1968). Bei einer Konzentration von 100nM/ml (entsprechen 72,8mg/l) in der Durchströmungsflüssigkeit betrug die Resorptionsquote von Strophantin nach 60 Minuten 4,5%. Studien von Forth und Furkawa (1969a) an isoliert durchströmten Jejunumschlingen nach dem Modell von Fisher und Parsons sowie am Modell des everted gut sac bestätigen diese Ergebnisse.

Die von uns am everted gut sac ermittelte Resorptionsquote von 11,8% für g-Strophantin steht folglich in Einklang mit den aus der Literatur bekannten Angaben.

Die in unserem Versuchsaufbau ermittelten Resorptionsquoten von NADH in den Konzentrationen von 10, 50 und 100mg/l betragen respektiv 5,64, 3,6 und 4,7%. Der Vergleich mit den Resorptionsquoten von Diazepam (22,44%) und Strophantin (11,8%) zeigt, dass NADH zumindest im geringen Ausmaß intestinal aufgenommen werden kann.

Wie bereits oben erwähnt, erlaubt das everted gut sac Modell in erster Linie Aussagen qualitativer Natur. In diesem Sinne kann die Frage nach der intestinalen Resorbierbarkeit von NADH positiv beantwortet werden.

Von einer Ausdehnung der Interpretation der Ergebnisse in den semi-quantitativen Bereich wird abgesehen, da bereits der Vergleich der Resorptionsquote von Diazepam und Strophantin zeigt, dass sich kein grosser quantitativer Unterschied zwischen einer theoretisch intestinal gut resorbierbaren und einer schlechter resorbierbaren Substanz einstellt.

Die intestinale Resorption eines Arzneimittels wird durch Molekülgröße, elektrische Ladung sowie Wasser- bzw. Fettlöslichkeit der Substanz beeinflusst. Eine grosse Molekülmasse und eine schlechte Löslichkeit verringern die Resorption.

Die Molekülgrösse von NADH beträgt 665,4 Dalton. Daten zum Lipid-Wasser-Verteilungskoeffizient existieren laut Herrn Dr. Nadlinger, Direktor für Forschung und Entwicklung, Birkmayer Labor, Wien (persönliche Kommunikation) bis dato nicht. Es ist aber bekannt, dass NADH stark hygroskopisch ist und sich gut in Wasser löst.

Zum Vergleich sei erwähnt, dass nur Stoffe einer Molekularmasse von 100-400 gut durch die tight junctions passieren, welche die einzelnen Zellen der intestinalen Barriere miteinander verbinden. Diazepam, mit einem Molekulargewicht von 284,76, entspricht diesen

Bedingungen, nicht jedoch NADH, das sich mit einem Molekulargewicht von 665,4 deutlich oberhalb des Grenzwertes befindet.

Die von uns durchgeführten Versuche umfassten die Dosisbereiche NADH 10, 50 und 100mg/l. Im Rahmen klinischer Studien an Parkinsonpatienten wurden Dosen von NADH 5mg/kg intravenös verabreicht. Bei Untersuchungen an unter Depression leidenden Patienten wurden symptomatische Verbesserungen nach oraler und parenteraler Gabe von NADH im Dosisbereich von 5-20mg/kg beobachtet.

In Verhaltensversuchen mit Ratten, bei denen die antidepressive Wirkung von NADH untersucht wurde, betrug der Dosisbereich 5-100mg/kg. In Studien zur Verbesserung der Gedächtnisleistung wurde NADH intraperitoneal in einer Dosis von 10-100mg/kg verabreicht. Der Vergleich zeigt, dass die von uns verwendeten Konzentrationen (NADH 10,50 und 100mg/l) das komplette Spektrum jener Dosen abdecken, die in Verhaltensversuchen mit Versuchstieren sowie in klinischen Studien am Menschen positive Wirkung gezeigt haben.

Soweit uns bekannt existieren lediglich Untersuchungen zur intestinalen Resorptionsquote von NADH Vorläufern wie Nicotinsäure (Niacin) und dem wasserlöslichem Vitamin B₃ (Nicotinamid). Sadoogh-Abassian und Evered führten 1980 Resorptionsstudien von Niacin und Nicotinamid am everted gut sac der Ratte durch. Dabei wurde folgende Beobachtung gemacht: sowohl Nicotinsäure als auch Nicotinamid werden im niedrigen Konzentrationsbereich (respektiv bis 4 und 6 mM) über einen sättigbaren Mechanismus resorbiert. In höheren Konzentrationsbereichen (bis 10mM) entspricht die Resorptionsquote einer linearen Funktion, d.h. mit zunehmender Konzentration in der Inkubationslösung steigt auch die Resorptionsquote der beiden untersuchten Substanzen.

Ausserdem wurden weder Nicotinsäure noch Nicotinamid gegen ihren Konzentrationsgradienten transportiert. Der Zusatz von 2,4-Dinitrophenol, ein Entkoppler der oxidativen Phosphorylierung, hatte keine Auswirkung auf die Resorptionsquote. Beides spricht gegen die Existenz eines aktiven Transportmechanismus.

Die Autoren schlossen aus diesen Daten, dass Nicotinsäure und Nicotinamid über einen passiven Transportmechanismus resorbiert werden. Im niedrigen Konzentrationsbereich wird aufgrund der sättigbaren Kinetik eine Aufnahme über den Carrier-vermittelten Mechanismus der erleichterten Diffusion angenommen.

Ziel des zweiten Versuchsabschnittes war es zu untersuchen, ob die sublinguale Verabreichung von NADH und NAD⁺ zu einer Veränderung der kortikalen NADH Konzentration führt.

Es ist bekannt, dass die Schleimhaut der Mund- und Rachenhöhle gute Resorptionseigenschaften hat. Insbesondere bei sublingualer oder buccaler Gabe ist eine rasche Aufnahme eines Wirkstoffes mit relativ schnellem Wirkeintritt möglich. Inaktivierung bzw. Beeinflussung durch Magensaft und das Darmmilieu mit den entsprechenden Enzymen sowie eventuell resorptionsverzögernde Einflüsse des Speisebreis werden vermieden. Da sublingual oder buccal applizierte Arzneimittel nach erfolgter Resorption nicht unmittelbar die Leber passieren, findet auch keine sofortige Metabolisierung statt.

Die Versuche wurden *in vivo* an der narkotisierten Ratte durchgeführt, wobei Variationen der kortikalen NADH Fluoreszenz mit Hilfe der Laser-induzierten Fluoreszenzspektroskopie gemessen wurden. Die durch externe Gabe ausgelösten Fluoreszenzänderungen wurden mit der physiologischen kortikalen NADH Fluoreszenz verglichen.

Unter physiologischen Bedingungen, d.h. ohne Zugabe fluoreszenzmodulierender Substanzen, war ein relativ niedriges NADH Fluoreszenzsignal messbar.

Es wurden verschiedene Dosierungsbereiche untersucht: NADH 10,50 und 100mg/kg sowie NAD⁺ 10,50 und 100mg/kg.

Ausschließlich die Gabe von NADH 100mg/kg führte zu einer statistisch signifikanten Zunahme der kortikalen NADH Fluoreszenz. Für alle anderen untersuchten Dosierungsbereiche konnten keine statistisch signifikanten Veränderungen festgestellt werden.

Tendenziell war jedoch auch nach Verabreichung von NADH 50mg/kg und NAD⁺ 50 sowie 100mg/kg ein Anstieg der kortikalen NADH Fluoreszenz nachweisbar (siehe Abb. 17 und 18).

Diese Ergebnisse ergänzen Untersuchungen von Rex und Mitarbeitern (2002), bei denen unter Anwendung der Laser-induzierten Fluoreszenzspektroskopie ebenfalls Veränderungen der kortikalen NADH Fluoreszenz nach systemischer Gabe von NADH, NAD⁺ und Nicotinamid untersucht wurden. Die Veränderung der kortikalen NADH Fluoreszenz nach oraler Gabe wurde der Veränderung der kortikalen NADH Fluoreszenz nach intraperitonealen und intravenösen Applikation gegenübergestellt. NADH (10 und 50mg/kg) intravenös und intraperitoneal (50mg/kg) verabreicht löste eine signifikante Zunahme der kortikalen NADH Fluoreszenz aus, während nach Verabreichung von NADH intraperitoneal (10mg/kg) und oral (10mg/kg) keine Zunahme der kortikalen NADH Fluoreszenz zu beobachten war.

NAD⁺ dagegen konnte nur nach intravenöser Gabe (10 und 50mg/kg) einen signifikanten Anstieg der kortikalen NADH Fluoreszenz bewirken. Nach intraperitonealer (10 und 50mg/kg) Applikation war kein Effekt zu beobachten.

Ebenso hatte die Verabreichung von Nicotinamid intraperitoneal (10 und 50mg/kg) und oral (10mg/kg) keine Wirkung auf die kortikale NADH Fluoreszenz.

Unsere Ergebnisse, und die von Rex und Mitarbeitern (2002), deuten darauf hin, dass die Applikationsart eine entscheidende Rolle im Zusammenhang mit der Bioverfügbarkeit von NADH spielt.

Der limitierende Faktor in diesem Prozess ist die Anzahl der Barrieren, die eine Substanz vom Applikationsort bis zum Wirkort überwinden muss. Für einen oral verabreichten Wirkstoff sind die beiden wichtigsten zu überwindenden Hindernisse die Darmwand und die Blut-Hirn-Schranke. Sowohl bei intraperitonealer als auch bei sublingualer Gabe wird die Darmwand als verzögernder Faktor der Resorption umgangen.

Der sublinguale Applikationsweg zeichnet sich durch vergleichsweise gute Resorptionsbedingungen aus. Trotz der relativ kleinen Absorptionsfläche kommt es zu einer schnellen und effektiven Aufnahme. Die über sublinguale und buccale Schleimhaut aufgenommenen Wirkstoffe gelangen über die venösen Gefäße des Mundraumes direkt in die Vena cava superioris. Eine präsystemische Elimination durch den first-pass Effekt in der Leber wird deshalb vermieden (Forth et al.,1996). Ebenso entfällt die Magenpassage als limitierender Faktor. Aufgrund des extrem sauren pH Wertes im Magen kann es in vielen Fällen zu einer teilweisen Inaktivierung eines Wirkstoffes kommen.

Wirkstoffen, die intraperitoneal verabreicht werden, steht eine überaus grosse Resorptionsfläche zur Verfügung, wodurch eine schnelle Aufnahme in den Blutkreislauf garantiert ist. Die Aufnahme erfolgt allerdings in erster Linie in die Vena porta, weshalb ein Wirkstoffverlust durch den hepatischen First-pass Effekt in Betracht gezogen werden muss (Benet et al.,1990). Hinsichtlich der klinischen Anwendbarkeit ist der sublinguale Applikationsweg zweifelsohne dem intravenösen Verabreichungsweg vorzuziehen.

Aus unseren und aus den Ergebnissen von Rex und Mitarbeitern (2002), insbesondere aus der Beobachtung, dass NADH nach intravenöser Gabe zu einem fast sofortigen Anstieg der kortikalen NADH Fluoreszenz führt, kann ein wichtiger Schluss gezogen werden, nämlich, dass systemisch verabreichtes NADH zu einer Zunahme der zentralen NADH Konzentration führt.

Es kann jedoch bis jetzt noch keine Aussage darüber gemacht werden, ob extern verabreichtes NADH auch wirklich die Blutbahn verlässt und durch die Blut-Hirn-Schranke ins Gehirn gelangt, um dort zur Vergrößerung des NADH Pools beizutragen.

Denkbar wäre auch, dass ein peripherer Anstieg der NADH Konzentration zu einer Verschiebung des Laktat/Pyruvat Verhältnisses führt (Lance et al.,1985). Sowohl Pyruvat als

auch Laktat sind in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und es besteht die Möglichkeit, dass das dadurch im ZNS veränderte Laktat/Pyruvat Verhältnis zu einem sekundären Anstieg der NADH Konzentration im ZNS führt.

Das Gehirn ist gegen den restlichen Körper durch die Blut-Hirn-Schranke abgegrenzt. Diese stellt eine selektive Barriere dar, die zahlreiche Stoffe am Eindringen ins Gehirn hindert. Die Blut-Hirn-Schranke wird von den Endothelzellen der Gehirnkapillaren gebildet. Im Vergleich zu anderen Endothelzellen haben diese ein geschlossenes, nicht gefenstertes Epithel. Einzelne Zellen sind durch tight junctions miteinander verbunden. Nur an wenigen Orten existiert ein gefenstertes Epithel, das eine grössere Durchlässigkeit erlaubt, z.B. Area postrema, Plexus choroideus und Tuber cinereum (Kahle, 1991).

Prinzipiell wird die Resorption durch die Blut-Hirn-Schranke von den gleichen Faktoren bestimmt wie die Resorption an allen anderen organischen Zellmembranen. D.h. lipidlösliche, nicht geladene und nicht an Proteine gebundene Wirkstoffe können die Blut-Hirn-Schranke problemlos überwinden (Rall, 1971).

Nach Verabreichung von NAD⁺ konnte, ausgenommen nach intravenöser Gabe (Rex et al., 2002), keine signifikante Erhöhung der kortikalen NADH Fluoreszenz gemessen werden. Die Beobachtung eines tendenziellen Anstiegs nach sublingualer Gabe von NAD⁺ 50 und 100mg/kg legt jedoch die Vermutung nahe, dass zwischen reduzierter (NADH) und oxidiertes (NAD⁺) Form ein Fließgleichgewicht besteht. Eine rasche einseitige Zufuhr von NAD⁺ führt dann zu einer Wiederherstellung dieses Fließgleichgewichtes, indem NAD⁺ teilweise zu NADH reduziert wird, was die Zunahme der NADH Fluoreszenz erklären könnte.

Dass sowohl in unseren als auch in vorangegangenen Studien (Rex et al., 2002, Klaidmann 2001) nach sublingualer und nach intraperitonealer Gabe von NAD⁺ nur ein minimaler Fluoreszenzanstieg gemessen werden konnte, ist vermutlich durch die erschwerte Resorption geladener Moleküle bedingt. Es wäre jedoch denkbar, dass nach längerer NAD⁺ Vorbehandlungszeit eine Zunahme der NADH Fluoreszenz sichtbar würde.

Die gemessenen Fluoreszenzwerte stellen relative Werte dar, die in arbitrary units („dimensionslosen Einheiten“) ausgedrückt werden. Deshalb benötigt man zur Beurteilung ihrer Größenordnung Vergleichswerte z.B. in Form von Kontrollmessungen, welche das mögliche Ausmaß von Änderungen der kortikale NADH Fluoreszenz unter physiologischen oder pathologischen Bedingungen zeigen. Eine andere derartige Vergleichsmessung stellt die Aufzeichnung der kortikalen NADH Fluoreszenz zum Zeitpunkt des Exitus letalis dar. Bei Eintritt des Exitus erfolgt eine Unterbrechung der Atmungskette, infolge dessen wird kein NADH mehr verbraucht, weshalb es zu einer schnellen Akkumulation desselben kommt. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von anderen Autoren nach Verabreichung letaler

Dosen Barbiturat (Mottin et al.,1997) sowie nach intravenöser Gabe von T-61 und Kalium Chlorid (Mayevsky et al.,2002a) berichtet.

Mit spektroskopischen Methoden ist dieser Vorgang in Form einer Zunahme der Fluoreszenzintensität messbar.

Die parallel zum Exitus gemessenen Fluoreszenzwerte stellen außerdem die maximal möglichen Veränderungen dar, welche die kortikale NADH Fluoreszenz innerhalb eines Versuches erreichen kann. In unseren Versuchen wurde der Exitus durch intrakardiale Verabreichung einer Überdosis Chloralhydrat ausgelöst. Die dabei gemessene Steigerung der NADH Fluoreszenzintensität betrug +45% des Ausgangswertes.

Im Vergleich dazu wurde bei den von uns untersuchten Substanzen und Konzentrationen ein signifikanter Anstieg der NADH Fluoreszenz nur nach Gabe von NADH 100mg/kg registriert. Der beobachtete Anstieg der Fluoreszenz betrug +8% des Ausgangswertes. D.h. der durch Eintritt des Exitus verursachte Anstieg der Fluoreszenzwerte war etwa 5,5 mal größer als der durch NADH 100mg/kg ausgelöste Fluoreszenzanstieg.

Dieser Unterschied ist aufgrund zweier Überlegungen zu erklären:

Im Ruhezustand wird etwa 70% der vom Gehirn konsumierten Gesamtenergie zur Aufrechterhaltung der physiologischen Neurotransmission verwendet (Shulman et al., 2004), d.h. der Energieverbrauch durch Basalaktivität ist relativ hoch. Das bedeutet auch, dass der durch zusätzliche neuronale Aktivität entstehende Energiebedarf im Vergleich zum Basalbedarf relativ niedrig ist. Bei Eintritt des Exitus kommt es zum Stillstand der physiologischen Grundfunktionen, so auch der zerebralen Neurotransmission. Da keine Energie und folglich auch kein NADH mehr verbraucht wird, kommt es zu einem extrem hohen Anstieg der NADH Fluoreszenz.

Im Vergleich dazu ist zu bemerken, dass die Messung der NADH Fluoreszenz nach Gabe von NADH 100mg/kg im narkotisierten Zustand stattfand. Wie weiter unten genauer erklärt, wird im narkotisierten Zustand weniger Energie verbraucht als im Wachzustand.

Eine erhöhte Ausgangsfluoreszenz sowie die Zugabe einer nur geringen Menge NADH (100mg/kg) führt zu einer relativ kleineren Zunahme der Fluoreszenz als die durch den Exitus hervorgerufene Zunahme der Fluoreszenz.

Die Tatsache, dass wir unsere Versuche am narkotisierten Tier durchführten, könnte ebenfalls eine Auswirkung auf die Größenordnung der gemessenen Fluoreszenzwerte haben.

Im narkotisierten Zustand wird weniger Energie und folglich auch weniger NADH verbraucht. Es muss jedoch angemerkt werden, dass bisher noch keine Studien vorliegen, in denen die NADH Fluoreszenz im wachen und narkotisierten Zustand direkt verglichen wurde.

Ausserdem führt ein reduzierter Energiekonsum zur Ansammlung von Glukose, was wiederum eine Verschiebung des Gleichgewichtes NADH/NAD^+ zu Gunsten von NADH bewirken könnte und damit ebenfalls eine Steigerung des Fluoreszenzsignales mitbedingt. Die genannten Überlegungen sprechen dafür, dass das im narkotisierten Zustand gemessene Fluoreszenzsignal höher sein müsste als ein entsprechendes Signal, das im wachen Zustand gemessen würde.

Prinzipiell sind Messungen am wachen, sich frei bewegenden Tier möglich (Mottin et al., 1997 und 2003), entsprechende Studien wären für die Zukunft wünschenswert.

NADH löst nach sublingualer Gabe einer Dosis von 100mg/kg eine statistisch signifikante Zunahme der kortikalen NADH Fluoreszenz aus. Geringere NADH Dosen, die ebenfalls sublingual verabreicht wurden, waren nicht in der Lage, derartige Veränderungen zu bewirken. Die vorliegenden Ergebnisse sprechen dafür, dass NADH nach sublingualer Applikation die kortikale NADH Konzentration beeinflusst. Die beobachtete Wirkung ist konzentrationsabhängig.