

8. Zusammenfassung

In vorangegangenen Arbeiten wurde eine zeit- und altersabhängige Erhöhung der Uracilnucleotid-Konzentrationen in der Rattenleber unter Vitamin B6-Mangelbedingungen gezeigt. Das erste Teilprojekt dieser Arbeit befasste sich mit der Messung der Nucleotidkonzentrationen in verschiedenen Organen der Ratte zum Zeitpunkt der maximalen Erhöhung der Uracilnucleotide in der Rattenleber. Im Rahmen des zweiten Teilprojektes sollte untersucht werden, ob es Anhaltspunkte gab, dass für die Uracilnucleotiderhöhungen in der Rattenleber unter Vitamin B6-Mangel Glucocorticoide verantwortlich waren. Im dritten Teilprojekt wurde die Glykosylierung der Plasmamembranen der Rattenleber unter dem Einfluss eines Vitamin B6-Mangels mit konsekutivem Uracilnucleotidüberschuss analysiert. Mehrere Arbeiten an Zellkulturen hatten eine Beeinflussung der Glykosylierung von N-Glykanen unter Bedingungen erhöhter intrazellulärer Uracilnucleotid-Konzentrationen gezeigt.

Teilprojekt I:

- Vitamin B6-Mangel führte in Lebern von zu Versuchsbeginn 3 Wochen alten Ratten zu einer bis zu fünffachen Erhöhung der Uracilnucleotide UTP, UDP, UMP, UDP-Glc, UDP-Gal, UDP-GA, UDP-GlcNAc und UDP-GalNAc. Damit wurden frühere Ergebnisse aus dieser Arbeitsgruppe bestätigt. In dieser Arbeit konnte die Organspezifität des Vitamin B6-Mangels auf diese Nucleotidpools gezeigt werden. Im Herzmuskel kam es zu einer 40%igen Erniedrigung der Konzentrationen von UDP-GlcNAc, UDP-GalNAc und UDP-Glc sowie der Summe von UTP, UDP und UMP. In der Niere konnte eine 40%ige Konzentrationsminderung der Summe von UTP, UDP und UMP nachgewiesen werden, während UDP-GalNAc, UDP-Glc und UDP-Gal um das 1,3- bis 1,4-fache erhöht waren. Im Gehirn zeigten UDP-Glc und UDP-Gal eine Konzentrationserhöhung auf das 1,3- bzw. 1,5-fache. In der Lunge war lediglich die UDP-GA-Konzentration unter Vitamin B6-Mangel um 68% erhöht.
- Neben den Uracilnucleotiden zeigten auch CTP und CDP in der Rattenleber eine Konzentrationserhöhung um einen Faktor von 1,6 im Vitamin B6-Mangel. Im Gehirn war die CTP/CDP-Konzentration im Vitamin B6-Mangel auf das 1,4-fache der Kontrollen erhöht. In der Niere, Lunge und im Herzmuskel traten keine

signifikanten Konzentrationsänderungen von CTP/CDP auf. Die Konzentrationen von GTP und GDP waren in den unterschiedlichen Organen durch Vitamin B6-Mangel unbeeinflusst.

- In dem in dieser Arbeit gemessenen Zeitraum (5 Wochen) kam es zu keiner signifikanten Wachstumsverzögerung oder makroskopisch sichtbaren Veränderungen der Organe.

Teilprojekt II:

- Auch in adrenaletomierten Ratten wurde eine deutliche Erhöhung der Konzentration der Uracilnucleotide im Vitamin B6-Mangel gemessen. Die Faktoren der Erhöhung lagen dabei aber um ca. 25% niedriger als bei Tieren ohne Eingriff in die Glucocorticoid-Homöostase.
- CTP und CDP zeigten bei adrenaletomierten Ratten unter Vitamin B6-Mangel eine Konzentrationserhöhung um den Faktor 1,8. GTP- und GDP-Konzentrationen waren unverändert.
- In Tieren mit zweitägiger Nahrungskarenz im Anschluss an die Vitamin B6-Mangeldiät blieb eine Erhöhung der Uracilnucleotid-Konzentrationen aus.
- Die Konzentrationen von CTP und CDP waren unter Hungerbedingungen ebenfalls unverändert.
- Die mit normaler Haltungsdiät gefütterten Kontrollgruppen der drei Untergruppen: Adrenaletomie, Nahrungskarenz und konventionelle Haltung zeigten untereinander keine Unterschiede der Konzentrationen von Uracil-, Guanosin- oder Cytidinnucleotiden.

Teilprojekt III:

- Der Anteil an komplexen N-Glykanen am Gesamtglykangemisch der Plasmamembranen aus Rattenlebern betrug sowohl im Vitamin B6-Mangel, als auch in den Kontrolltieren 89%.
- Die N-Glykane der Plasmamembran bestanden aus einer Mischung von mannosereichen und komplexen Oligosacchariden. In der Aminophase-HPLC konnten 15 Fraktionen mit 11 Hauptfraktionen >1% der Gesamtglykane charakterisiert werden. Es wurden vier dominierende Strukturen ermittelt. Biantennäre Glykane mit und ohne Fucose (55%), triantennäre Glykane mit und ohne Fucose (21%) und tetraantennäre Strukturen mit und ohne Fucose (10%) sowie tetraantennäre Strukturen mit ein- bis drei *repeating-units* mit und ohne Fucose (3%) (Prozentangabe bezogen auf den Gesamtglykangehalt).
- Das Glykosylierungsmuster der neutralen N-Glykane stimmte mit dem der Kontrolltiere überein; es zeigten sich keinerlei qualitative oder quantitative Veränderungen des Glykosylierungsmusters unter Vitamin B6-Mangel und konsekutivem Uracilnucleotidüberschuss. Dieses Ergebnis sprach für ein Zusammenspiel verschiedener Regulationsebenen der N-Glykosylierung von Proteinen *in vivo*.
- In der Vitamin B6-Mangelgruppe und in der Kontrollgruppe fand sich ein hoher Sialyierungsgrad der Oligosaccharide von durchschnittlich 95%. Es zeigten sich einfach bis sechsfach sialylierte Oligosaccharide, wobei bi-, tri- und tetrasialylierte Oligosaccharide die Hauptfraktionen ausmachten. Das Sialylierungsmuster der Plasmamembran aus Rattenleber war im Vitamin B6-Mangel im Vergleich zu den Kontrollen qualitativ und quantitativ unverändert.
- In beiden Gruppen ließen sich eine hohe Anzahl an Sialinsäuren bei bi- und triantennären Glykanstrukturen nachweisen. So fanden sich biantennäre Oligosaccharide mit drei und mit vier Sialinsäuren, sowie triantennäre Glykane mit vier, fünf und sechs Sialinsäuren. Ungefähr 40% der gefundenen Zuckerstrukturen zeigten diese Übersialylierung mit bis zu drei Sialinsäuren Überschuss über der Antennarität des Glykans.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden unter Einbezug aktueller Literatur hinsichtlich der Ursachen und möglicher metabolischer Auswirkungen diskutiert. Die Ergebnisse dieser Arbeit bilden die Grundlage für weitere Untersuchungen der möglichen regulativen Funktion von Vitamin B6 im Uracilnucleotid-Stoffwechsel.