

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Gudermann

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg  
und des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Standort Marburg

**Effekte einer akuten Dosis Ethanol auf bestimmte  
Aminosäuren und verwandte Verbindungen in Plasma,  
Aorta, Herz, Pancreas und Bronchus von Ratten**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin-  
dem Fachbereich der Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Riad Mutasem Abdel-Nabi  
aus Düsseldorf

Marburg 2005

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg  
am: 01.12.2005

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

**Dekan:** Prof. Dr. med. B. Maisch

**Referent:** Prof. Dr. K.J. Netter

**Korreferent:** Prof. Dr. H. Renz

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>1</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>4</b>
1.1 Allgemeines	4
1.2 Einteilung der Aminosäuren	7
1.3 Auflistung der einzelnen Aminosäuren	8
1.4 Allgemeines über Alkohol	13
1.4.1 Geschichte	14
1.4.2 Akute Wirkungen	14
1.4.3 Chronische Wirkungen	17
1.5 Wirkungen von Alkohol auf die biochemische Prozesse	18
1.6 Wirkungen von Alkohol auf das endokrine System	21
1.7 Arbeitshypothese	22

<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>24</b>
2.1	Allgemeines	24
2.1.1	Präparation der Gewebe	24
2.1.2	Homogenisation der Gewebeproben	25
2.1.3	Aminosäureanalyse	26
2.1.4	Analytische Technik	27
2.2	Spezielle Methodik	29
2.2.1	Verabreichung der Injektion	29
2.2.2	Kalkulationen und Statistik	29
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>32</b>
3.1	Tabellen	32
3.2	Graphiken	67
3.3	Allgemeines	71
3.4	Darstellung der Konzentrationen	71
3.5	Vergleich der Konzentrationen	75
3.6	Veränderungen der Quotienten	78
3.7	Gewebe/Plasma-Korrelationen	80
3.8	Konzentrationsverhältnisse von 7 ausgewählten Verbindungen	82
3.9	Korrelationen von Verhältnissen	84

<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>88</b>
4.1	Methoden und allgemeine Betrachtungen	88
4.2	Resultate aus vorausgegangenen Untersuchungen	89
4.3	Resultate in den Kontrollgruppen	90
4.4	Resultate in den Experimentalgruppen	97
4.5	Zusammenfassung	105
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>107</b>
<b>6</b>	<b>Anhang</b>	<b>127</b>

## 1. Einleitung

### 1.1. Allgemeines über Aminosäuren

Wahrscheinlich bin ich voreingenommen, weil es mein Zweig der Forschung ist, aber ich betrachte den Stoffwechsel der Aminosäuren als eine der am allermeisten faszinierenden Teilbereiche der Biochemie! [10] Mit diesem Satz begann vor fast 20 Jahren David Bender sein Buch zum Thema Aminosäuren und ihr Metabolismus.

Dieser Meinung kann man sich nicht entziehen, wenn man sich erst einmal mit dem Metabolismus der Aminosäuren beschäftigt hat. Ein treffender Vergleich für die Aminosäuren, die mindestens schon 2 Billionen Jahre alt sind, ist der mit einem Alphabet, welches durch seine einfachen Buchstaben so viele Worte und Sprachen ausdrücken kann. Die Buchstaben sind also die AS, die Worte sind die Proteine und die Sprachen die verschiedenen Funktionsklassen der Proteine [10].

Einige Beispiele für die Funktionsklassen sind u. a.:

**Enzyme**- diese Makromoleküle katalysieren fast alle chemischen Reaktionen in biologischen Systemen, von den einfachsten Reaktionen, wie der Hydratation von Kohlendioxid, bis hin zu den sehr komplexen Reaktionen von Chromosomen.

**Transportproteine**- wie z.B. Hämoglobin, Myoglobin oder Transferrin, transportieren Ionen oder kleine Moleküle durch das Blut, Membranen oder andere Systeme.

**Bewegungsproteine**- d.h. durch Aktin und Myosin wird Muskulaturbewegung erst möglich gemacht. Auch die koordinierten Bewegungen der Chromosomen in der Mitose, werden durch das Protein Tubulin in den Mikrotubuli ermöglicht.

**Kollagen** ist das Protein, das für die hohe Zugfestigkeit von Haut und Knochen verantwortlich ist.

**Antikörper**, die für die Immunantwort bzw. den Immunschutz auf Bakterien, Viren und Fremdkörperzellen verantwortlich sind, sind hoch spezifische Proteine.

**Rezeptorproteine** sind die Proteine, die z.B. Nervenimpulse an Synapsen übertragen.

**Hormone**, die die Aktivität von verschiedenen Zelltypen in zahlreichen Organen koordinieren, sind teilweise auch Proteine, wie z.B. Insulin oder TSH.

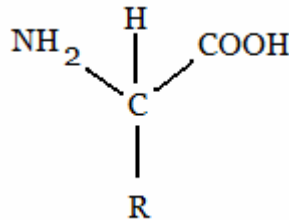
Neben den gerade erwähnten Funktionsklassen gibt es noch weitere interessante Klassen, wie z.B. bestimmte Antibiotika, Pilzgifte und eminent wichtig- Proteine als molekulare Instrumente, durch die die genetischen Informationen aller Lebensformen ausgedrückt werden.

Wie an diesen Beispielen zu erkennen ist, sind Proteine und damit AS äußerst wichtig. Daher ist es notwendig noch mehr Informationen hinzuzufügen, die das Verständnis für ihr Funktionieren und das Arbeiten mit ihnen verbessert.

Aminosäuren werden so benannt, weil sie aus einer Aminogruppe(-NH<sub>2</sub>) und einer Carboxylgruppe(-COOH) bestehen. Diese beiden Gruppen sind an dasselbe C-Atom, das sog. α-(alpha)Atom, welches außerdem noch ein H-Atom und eine sog. R-Gruppe an sich gebunden hat. Diese R-Gruppe, die durch ihre Variation in Größe, Länge, Ladung und Hydrogenbindekapazität die 20 verschiedenen AS charakterisiert, bestimmt mit diesen Merkmalen die chemische Reaktivität der AS.

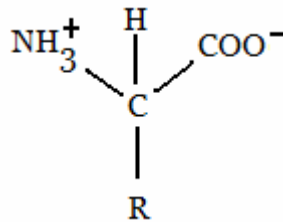
Ein weiterer Punkt, der vor allem für die Reaktivität und die Struktur von Proteinen und im folgenden für die Methode der AS-Determination dieser Untersuchung wichtig ist, ist die Frage nach der Ionisationsform der AS, da die Technik der Auftrennung, Identifizierung und Quantifizierung der AS auf deren charakteristischem Säure-Base-Verhalten basiert. AS sind in wässriger Lösung ionisiert und können entweder als Säuren oder Basen agieren. Bei einem neutralem pH-Wert von 7 liegen die AS hauptsächlich als dipolare Zwitterionen vor, d.h. dass die Aminogruppe protoniert (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) vorliegt und somit als

Säure(Protonendonator) fungiert und die Carboxylgruppe ( $-\text{COO}^-$ )deprotoniert ist und daher als Base(Protonenakzeptor) agieren kann. Die Ionisationsform verändert sich mit dem pH-Wert. Liegt ein saurer pH ( $<7$ ) vor, steigt die Tendenz mit sinkendem pH zu protonierter Carboxylgruppe



R=Rest

Andererseits, wenn der pH-Wert steigt, steigt die Tendenz zu deprotonierter Aminogruppe



R=Rest

Dadurch haben AS, solange sie keine weiteren zusätzlichen Amino- oder Carboxylgruppen in ihrer Seitenkette besitzen, charakteristische Titrationskurven, aus denen sich dann unter anderem der Isoelektrische Punkt(IP) berechnen lässt. Dieser IP gibt den pH-Wert an, an dem die AS voll dissoziiert ist und somit keine elektrochemische Ladung hat. Da alle AS einen eigenen charakteristischen IP haben, kann man vorherbestimmen, ob eine AS in einem elektrischen Feld zur Anode oder Kathode wandern würde.

Diese Informationen lassen sich nun praktisch anwenden, um die AS aus einem Gemisch von AS in wässriger Lösung bei einem bekannten pH-Wert zu trennen. Im Allgemeinen lassen sich diese Bestimmungen auch auf AS beziehen, die in ihren Seitenketten noch zusätzliche Carboxyl- oder Aminogruppen besitzen, nur dass es keinen IP gibt, da nun immer eine elektrische Ladung überwiegt.



## 1.2 Einteilung der AS

Nun zur Einteilung von AS, die man, wie schon erwähnt, anhand ihrer Seitenketten treffen kann. Es gibt 5 Hauptklassen, deren R-Gruppen unterschiedlich sind:

### 1.) nicht-polare und aliphatische AS:

Glycin(GLY)  
Alanin(ALA)  
Valin(VAL)  
Leucin(LEU)  
Isoleucin(ILE)  
Prolin(PRO)

### 2.) aromatische AS

Phenylalanin(PHE)  
Tyrosin(TYR)  
Tryptophan(TRP)

### 3.) polare, ungeladene AS

Serin(SER)  
Threonin(THR)  
Methionin(MET)  
Cystein(CYS)  
Asparagin(ASP)  
Glutamin(GLN)

### 4.) positiv geladene AS

Lysin(LYS)  
Arginin(ARG)  
Histidin(HIS)

### 5.) negativ geladene AS

Aspartat(ASP)  
Glutamat(GLU)

Außer diesen 20 Standardaminosäuren, die nur in Proteinen gefunden werden, gibt es noch über 300 andere. Diese sind von den Standardaminosäuren abgeleitet und werden erst modifiziert wenn sie in ein Protein eingebaut worden sind.

Im Folgenden werden die Hauptfunktionen und Haupteigenschaften der in dieser Arbeit untersuchten AS und ihrer verwandten Verbindungen in der

Reihenfolge ihrer Determination ganz kurz erwähnt, um einen kurzen Überblick über die Chemie dieser Untersuchung zu gewinnen.

### **1.3. Auflistung der Funktionen der untersuchten Aminosäuren**

#### 1) Phosphoserin(PSER):

Vorläufer bei der Aminosäuresynthese von Serin und Glycin, Baustein des Milchproteins Casein; Membranmetabolit; besitzt akut inhibitorischen Effekt auf Neurone des zentralen Nervensystems und kommt in erhöhten Konzentrationen beim Morbus Alzheimer vor [76]

#### 2) Taurin(TAU):

Entsteht aus Methionin; Vorstufe bei der Synthese der Gallensalze; eine Rolle in der Kontrolle von Blutdruck und Herzfrequenz [70] wird ebenso wie eine Schutzfunktion gegen Oxidantien an der Augenoberfläche vermutet.

#### 3) Phosphoethanolamin(PEA):

Verwandte Verbindung der Aminosäuren als Baustein der Phospholipide der Zellmembran; Tumormarker bei Brustkrebs [84]

#### 4) Aspartat(ASP):

AS, die das Kohlenstoffskelett von Oxalacetat aus dem Citratzyklus transportiert; Bindeglied zwischen Citrat- und Harnstoffzyklus als Nitrogendonator im Harnstoffzyklus, Baustein der Mesophyllzellen von Pflanzen (Pflanzenatmung), Vorstufe bei der Synthese von essentiellen AS, Pyrimidinen und Purinen

5) Glutathion(reduziert;GSH):

Tripeptid bestehend aus GLU-CYS-GLY; Redoxpuffer mit immenser Kapazität; als Redoxpuffer beteiligt an der Synthese der DNA

6) Threonin(THR):

Vorläufer der essentiellen AS Isoleucin, Leucin und Methionin, nach Umwandlung in Succinyl-CoA ein Zwischenprodukt des Citratzyklusses; Rezeptorbestandteil der Bindung von Gastrin im Magen[85].

7) Serin(SER):

Vorstufe bei der Glycin- und Cysteinsynthese, Baustein der Phospholipide der Zellmembran, beteiligt an der Synthese der Sphingolipide der Nervenzellen als Aminosäure des Sphingomyelins .

8) Asparagin(ASP):

Aminodonor und Vorstufe des Aspartat (Amid von Aspartat, welches eine Aminogruppe mehr abspalten kann und selbst zu Aspartat wird); über Oxalacetat Komponente des Citratzyklusses

9) Glutamat(GLU):

Transportprotein für Ammoniak bei dessen Weg in die Leber zur Exkretion; NH<sub>3</sub>-Donor bei der Synthese der Aminosäuren Tyrosin, Phenylalanin und Histidin; Baustein des reduzierten Glutathions (GSH); Vorstufe des biogenen Amins GABA und der Aminosäure Glutamin; Neurotransmitter

10) Glutamin(GLU):

Transport von für den Körper toxischem Ammoniak aus den Organen zur Leber, wo das Ammoniak in den Mitochondrien zu Harnstoff umgebaut wird; als Aminodonor Reagenz vieler biosynthetischer Prozesse; Katalysator der Histidin- und Pyrimidinsynthese ; über alpha-Ketoglutarat Komponente des Citratzyklus

11) alpha-Aminoapadicsäure(AAA):

Baustein der Phospholipidmembran [105]

12) Glutathion(oxidiert;GSSG):

Durch stabile Disulfidbindung gekoppeltes Doppelmolekül des red. Glutathions(GSH). Endzustand der über das reduzierte Glutathion durchgeführten Oxidation; wie GSH hilft es als Redoxpuffer bei der Synthese von Deoxyribonucleotiden

13) Glycin(GLY):

Vorstufe bei der Kreatinsynthese (Energiereservoir der Muskelzelle) und bei der Hämoglobinsynthese (Porphyrin); inhibitorischer Transmitter im zentralen Nervensystem

14) Alanin(ALA):

Transportprotein der Ammonium-Gruppen zur Leber, jedoch im Gegensatz zu GLN im Speziellen der im Muskelgewebe anfallenden Aminogruppen; nach Abgabe der Aminogruppe tritt es als Pyruvat in den Citratzyklus ein, um hinterher der Gluconeogenese und damit dem Muskel wieder zur Verfügung zu stehen

15) Citrullin(CIT):

Metabolit des Harnstoffzyklusses; Vorstufe bei der Argininsynthese ; Endprodukt bei der Stickoxidsynthese aus Arginin

16) alpha-Aminobuttersäure(AABA):

Baustein der Phospholipidmembran [105]

17) Valin(VAL):

Sorgt für verbesserte Nitrogenbalance im Muskel; Stabilisierung der dreidimensionalen Struktur der Proteine durch Einfluss auf Packaging und Auffalten der AS durch hydrophobe Effekte [148]; als Prekursor von Propionyl - COA Komponente des Fettsäurestoffwechsels [71]

18) Cystin(CYS):

Baustein sehr stabiler Disulfidbrücken; 2 Moleküle Cystin bilden durch solch eine Doppelbrücke die AS Cystein; Cystin tritt über Pyruvat in den Citratzyklus ein

19) Methionin(MET):

Vorstufe des s-Adenosyl-Methionin ( starkes, methylierendes Reagenz ); Methyl donor bei der Kreatin - und Cystinsynthese; Baustein der Polyamine (DNA-packaging); erste Aminosäure bei jeder Polypeptidsynthese

20) Cystein(CYST):

Doppelmolekül Cystin und sorgt für Stabilität in vielen Proteinen; Cystein ist bei der Synthese von Cystin aus Methionin und Serin Vorläufer von Cystin

21) Isoleucin(ILE):

Als Aminosäure mit einer verzweigten Seitenkette gleiche Effekte wie Valin auf den Muskel und die Proteinstruktur, Baustein einer Proteinkinase [26]

22) Leucin(LEU):

Außerhalb der Leber in Muskel, Fett, Niere und Gehirn ein Energieträger; häufiger Baustein der alpha- und beta- Globin-Ketten bei der Synthese des Hämoglobins

23) Tyrosin(TYR):

Vorstufe bei der Synthese verschiedener Neurotransmitter wie Dopamin, Adrenalin und Noradrenalin sowie bei der Synthese von Melanin; Baustein von Alkaloiden wie Morphin oder Geschmacksstoffen (Zimt, Vanille, etc.)

24) Phenylalanin(PHE):

Vorläufer bei der Tyrosinsynthese; Baustein von beim Tyrosin aufgeführten Alkaloiden

25) beta-Alanin(BALA):

nicht klassifizierte Aminoverbindung

26) beta-Aminoisobuttersäure(BAIBA):

Metabolit des Thymins [137]; Tumormarker bei Erkrankungen des oberen Harntraktes mit prognostischem Hintergrund [81]

27) gamma-Aminobuttersäure(GABA):

Neurotransmitter im zentralen Nervensystem

28) Tryptophan(TRP):

Vorstufe bei der Synthese verschiedener biogener Amine wie Serotonin (Neurotransmitter), wie NAD oder Indoleessigsäure (Wachstumsfaktor in Pflanzen, Ausscheidungsform des Serotonins)

29) Ethanolamin(EA):

Baustein der Phospholipide und Tumormarker bei Brustkrebs (siehe PEA)

30) Hydrolysin (HYLYS):

Elastin und Kollagen Typ I enthalten sehr hohe Konzentrationen an Hydroxylysin [43]; damit in Bindegewebe Grundlage des "cross-linkings" [118]; Baustein des Dentins [101]; wegen häufig auftretender Knochenmetastasen Tumormarker des Brustkrebses [43,98]

31) Ornithin(ORN):

Zwischenprodukt des Harnstoffzyklus

32) Lysin(LYS):

Hauptbestandteil der Histone (DNA-packaging und DNA-Struktur)

33) Histidin(HIS):

Einziges biologisches Puffersystem; in hohen Konzentrationen im Muskelgewebe; mitverantwortlich bei der Genregulation

34) Methyl-Histidine(1- und 3-MEHIS):

Bausteine des Cytochrom C, der Muskelproteine Aktin [114] und Dentin [101], sowie des Calmodulins

35) Anserin(ANSER):

je nach Reagenz Anti-Oxidans [7] oder Pro-Oxidans [23],

36) Carnosin(CAR), Homocarnosin(HOMOCAR):

Im Imidazolring enthaltene Dipeptide [102]; Anti-Oxidantien [7] oder Pro-Oxidantien [23], je nach Reagenz; spielen eine Rolle in dem Metabolismus und der Aktivität der Muskelzelle; stabilisieren die Plasmamembran [15]

37) Arginin(ARG):

Standardaminoäure; Synthese von Proteinen; Zwischenprodukt des Harnstoffzyklus; Amidonor für die Kreatinsynthese und andere organische Säuren; an der Synthese von Vasopressin beteiligt; Teil der die DNA stapelnden Histone[F85]

#### **1.4. Allgemeines über Alkohol**

Wenn man im Allgemeinen von Alkohol spricht, spricht man von Ethanol oder Ethylalkohol. Dieser entsteht beim Vergären von Mono- oder Disacchariden(Stärke von Gerste = Bier; Reis = Sake). Durch Destillation ist es dann möglich den Alkohol zu konzentrieren. Hochprozentiger(Spiritus dilutus = 70%; Spiritus = 90%) oder reiner Alkohol(96%) lassen sich im technischen Maßstab herstellen, sind in dieser Form dann aber nicht genießbar und werden meist, dann allerdings vergällt, nur zu gewerblichen oder wissenschaftlichen Zwecken verwandt. In der Medizin wird der Alkohol heute fast nur noch zu Desinfektionszwecken, wie z.B. zur chirurgischen Händedesinfektion, Desinfektion von Injektionsstellen oder Desinfektion zu Hygienezwecken verwandt. Durch einen sehr niedrigen Öl\Wasser- Verteilungsquotienten von 0.04, hat Ethanol sehr gute Verteilungsvoraussetzungen im menschlichen bzw. Säugetierorganismus. Seine Resorption kann sowohl vom Darm, als auch vom Magen erfolgen und ist in der Regel nach 1 h, je nach Füllungszustand des Magens, mehr oder weniger schnell beendet. Auch das Maximum der Blutkonzentration ist, abhängig von der aufgenommenen Menge Alkohol, nach 1-2 h erreicht[6].

##### 1.4.1. Geschichte

Das Wort „Alkohol“ kommt aus dem Arabischen und wurde von „Arkul“ abgeleitet, was soviel bedeutet wie „das Feinste“, womit ein feines, fast unsichtbares Pulver gemeint war, das beim Aufkochen von Früchten aufstieg. Alkohol, wie z.B. Bier und Wein, und seine berauschende Wirkung sind schon seit Jahrtausenden bekannt und reichen bis 8000 v. Chr. zurück, wo mit Honig zubereitetes Bier genossen wurde. Sogar in der ägyptischen Medizin wurde den Heilmitteln Bier als Rauschmittel zugemischt.

Die Destillation wurde erst ca. 800 n. Chr. von den Arabern entwickelt und kam im 10. Jahrhundert n. Chr. nach Europa, wo der hochprozentige Alkohol von den Alchemisten als „Elixir des Lebens“ betrachtet und gegen fast jede Krankheit als Medizin benutzt wurde. Erst ab dem 17. Jahrhundert fand er seinen Weg als Genussmittel in die Gesellschaften.

### 1.4.2. Akute Wirkungen

Die Wirkungen des Alkohols können in periphere und zentrale Wirkungen unterteilt werden, wobei der Alkohol nahezu alle peripheren Körpersysteme beeinflusst. Zu den peripheren Wirkungen zählen u. a.

**a) Kreislaufsystem-** es kommt zu einer Vasodilatation fast aller Gefäße. Die Widerstandsgefäße von Haut und Skelettmuskulatur dilatieren und dadurch gibt die Haut Wärme ab und wird trocken und heiß. Bei höherem Alkoholspiegel kommt es durch die Vasodilatation zu einer Verschiebung des Blutvolumens aus dem Splanchnikusgebiet in die Peripherie. Das subjektive Empfinden ist also Wärme oft verbunden mit Schwitzen. Die Vasodilatation ist teils zentralen Ursprungs, teils durch direkte Tonusminderung der Gefäßmuskulatur bedingt. Bei kaltem Wetter kann die aus Wärmeabgabe resultierende Hypothermie daher, bei langem Aufenthalt in der Kälte, zum Tode führen(z.B. Obdachlose). Durch die Vasodilatation am kardiovaskulären System kommt es zu Blutdruckanstieg und Erhöhung von Herzzeitvolumen und Herzfrequenz.

**b) Atmung-** die Atmung ist in fast allen Rauschstadien gesteigert, nur in nahezu tödlichen Konzentrationen kommt es zu zentraler Atemlähmung. Verantwortlich dafür ist der Anstieg des Acetaldehyds, ein Abbauprodukt des



Alkohols, welches auch die Relaxation der glatten Muskulatur der Blutgefäße bewerkstelligt.

**c) Gastrointestinaltrakt-** die Magensaftsekretion, wie auch die Pankreassaftstimulation sind vermutlich durch provozierte Gastrinsekretion erhöht, speziell wenn der Alkohol genossen wird. Besonders starke alkoholische Getränke, wie z.B. Schnaps, sind sehr irritierend für die Magenmukosa und können erosive Gastritiden hervorrufen. Dieser Alkoholgenuss kann auch Pankreatiden induzieren bzw. unterstützen. Der Mechanismus hierfür könnte eine Obstruktion des Pankreasganges sein, hervorgerufen durch eine erhöhte Sekretinkonzentration nach Ethanolgenuss.

**d) Leber-** akute Aufnahme von schon geringen Mengen Ethanol kann kleine Schäden hervorrufen, die normalerweise bei einem Gesunden durch die hohe Regenerationsfähigkeit der Leber schnell ausgeglichen werden können. Da aber nicht jede Leber gesund ist, kann es auch schnell zu bleibenden Schäden kommen. Ethanol hindert die Hepatozyten an der Produktion verschiedener Proteine, wodurch es zu einer Verminderung von Lipoproteinen kommt. Diese Verminderung führt zu einer Fettleber, evtl. schon bei geringen Mengen[103].

**e) Diurese-** Ethanol verhindert im supraoptischen-neurohypophysialen System die Sekretion von Vasopressin. Dadurch kommt es zur Diurese mit anschließendem gesteigertem Durst(sog. „Nachbrand“).

**f) Libido-** Alkohol ist ein Aphrodisiakum. Es steigert aber leider nicht nur die Lust, sondern auch durch Enthemmung die Gewaltbereitschaft. In größeren Mengen verursacht Alkohol allerdings eine Vollzugsunfähigkeit.

**g) teratogene Wirkung-** nachdem man es viele Jahrhunderte vermutet hat, ist es erst vor einigen Jahren zum 1. Mal vollständig beschrieben worden. Alkoholgenuss bzw. -missbrauch von Schwangeren kann das nicht zu selten auftretende Fetale Alkoholsyndrom mit Erscheinungen wie Spontanaborten, Totgeburten, Organmissbildungen, Minderwuchs, mentaler Retardierung, erhöhter Infektanfälligkeit und chromosomalen Aberrationen hervorrufen.

**h) biogene Amine-** die erhöhten Blutkonzentrationen von den aus dem Nebennierenmark freigesetzten Katecholaminen Adrenalin und Noradrenalin sind für die zwischenzeitliche Hyperglykämie, den leichten Blutdruckanstieg und die Pupillendilatation nach Alkoholgenuss verantwortlich.

Obwohl viele Menschen den Genuss von Alkohol als stimulierend empfinden, ist Ethanol eindeutig ein ZNS-Depressor.

Die zentralen Wirkungen sind ebenfalls sehr mannigfaltig und reichen von der Abnahme der körperlichen bis hin zur Abnahme der intellektuellen Fähigkeiten durch fast alle Funktionsgebiete des Gehirns. Zu diesen verminderten Fähigkeiten zählt die Einschränkung des Gleichgewichtssinnes, der Reaktionszeit, der Koordination, der Distanzabschätzung und des Gesichtsfeldes. Neben den Funktionsgebieten wird auch die Stimmungslage verändert, deren Skala von Euphorie, Redseligkeit, erhöhtes Selbstbewusstsein, über verminderte Selbstkritik, starker Sedierung, Koma, bis hin zu Aggressivität, Wutausbrüchen und Tötlichkeiten reicht.

Funktionen, wie z.B. Sprache, Kurz-, Langzeitgedächtnis und abstraktes Denken sind mit steigender Alkoholkonzentration stark vermindert. Als Grund dieser Stimmungs-, Bewusstseins- und Verhaltensveränderungen wird der unspezifische Angriff von Ethanol auf die in der Nervenzellmembran enthaltenen Lipide angesehen, der mit der daraus resultierenden Verminderung der Nervenleitfähigkeit einhergeht. Die dabei beeinflussten Zellmembranen gehören teils zu hemmenden, teils zu erregenden Nervenzellen, so dass die Reaktionen meist alternieren.

Außerdem ist der Schlaf betroffen. Obwohl nach einer akuten Alkoholaufnahme die Einschlafzeit verkürzt ist und subjektiv, wie auch objektiv der Schlaf sehr tief ist, handelt es sich bei den Schlafphasen um meist verkürzte REM-Schlaf-Phasen und um verlängerte non-REM-Schlaf-Phasen, die die Qualität des Schlafes somit vermindern[87].

#### 1.4.3. Chronische Wirkungen

Dass die Auswirkungen des chronischen Alkoholgenusses nicht besonders gesundheitsfördernd sind, ist vermutlich jedem bekannt, wird aber noch immer von vielen erheblich unterschätzt.

Obwohl mäßiger Alkoholgenuss einen HDL(high density lipoproteine)-Anstieg zur Folge hat, welcher die Gefahr für einen Myokardinfarkt vermindert, besteht bei längerem Abusus die Gefahr von koronarer Herzkrankheit, Kardiomyopathie, Arrhythmie und einer sich daraus entwickelnden Herzinsuffizienz.

Als Folgen einer Gastritis bei chronischem Genuss können sich peptische Ulcera und Pankreatitiden anschließen. Die folgenden Verdauungsschwierigkeiten können dann Plasmaproteinverlust, Vitaminmangel und Gewichtsabnahme nach sich ziehen. Fettleber und Leberzirrhose sind schon erwähnt worden(s. akute Wirkungen). Die Malabsorbition kann zu Thiaminmangel im Gehirn führen, welcher für die Entstehung des Wernicke-Korsakoff - Syndroms mitverantwortlich gemacht wird[77]. Durch den Mangel an Vitamin-B1 kommt es nachfolgend zu Polyneuropathie und durch den Vitamin-A-Mangel zu Nachtblindheit. Das Blutbild wird entweder direkt oder durch die Leberschädigung in Mitleidenschaft gezogen, indem Anämien, Thrombozytopenien und Leukozytopenien auftreten, die die Blutungsneigung und die Infektionsgefahr erhöhen. Das Risiko für Tumoren in Mund, Pharynx, Larynx, Ösophagus und Leber wird durch das supprimierte Immunsystem erhöht. Weiterhin kann die chronische Alkoholaufnahme in männlichen Trinkern die Testosteronproduktion senken und die Östrogenproduktion überwiegt. Dadurch kommt es nachfolgend evtl. zu Gynäkomastie, Hodenatrophie und letztendlich zu Impotenz. Nicht nur die Muskulatur des Herzens kann in Mitleidenschaft gezogen werden, auch die Membranen und nachfolgend der Stoffwechsel der Skelettmuskeln können schwer beschädigt werden und es treten Nekrosen, die mit Muskelschwund und Muskelkrämpfen einhergehen, auf. Das Risiko für das Fetale Alkohol Syndrom ist selbstverständlich bei langfristigem Missbrauch von Alkohol unverantwortlich hoch. Der schon erwähnte Vitamin B1- Mangel verursacht dann natürlich letztendlich auch neurologische Schäden am Gehirn; diese pathologischen Veränderungen bestehen in kortikalen Atrophien, vergrößerten Ventrikeln und durch die Demyelinisierung von Nervenfasern bedingten Verlust von Pyramiden- und Purkinjezellen.

### **1.5. Wirkungen von Alkohol auf biochemische Prozesse in anderen Organen**

Die Forschung auf dem Gebiet der Ethanolwirkungen auf biochemische Prozesse im Organismus hat sich bisher hauptsächlich auf die Organe konzentriert, in denen die auffälligsten und größten Schäden durch Alkohol bekannt waren: Leber, Muskel, Gehirn und das Plasma als das Transportsystem für fast alle Substanzen und Stoffwechselsubstrate.

Dabei war man bemüht, den genauen Mechanismus von pathologischen Wirkungsweisen des Alkohols aufzuklären. Da Aminosäuren die Schlüsselbausteine der Biochemie sind, war die Veränderung in Konzentrationen der Aminosäuren im Mittelpunkt des Interesses.

Im Folgenden sollen die bisher gefundenen Auswirkungen von Alkohol, im Besonderen einer akuten Dosis Alkohol, auf die Biochemie von Organen, wie z.B. Plasma, Leber und Gehirn, dargestellt werden.

Im **Plasma** werden nach einer akuten Dosis Alkohol Konzentrationsverminderungen von Aminosäuren gefunden[93, 52, 54, 33, 53, 51]. Die Resultate dieser Studien differieren meist nur in der Anzahl und der Höhe der gefundenen Veränderungen bei gleicher Konzentration der verabreichten Ethanolösung und bei gleicher Methode der Determination. Milakofsky et. al.[93] fanden z.B. eine signifikante Konzentrationsreduktion von bis zu 40% in 23 der von ihnen untersuchten 46 Aminoverbindungen, wogegen Hagman und Eriksson[54] 18 von 20 untersuchten Aminosäuren, mit Verminderungen zwischen 10% und 45%, als signifikant vermindert ermittelten. Bei der Diskussion um den verantwortlichen Mechanismus für diese Verminderungen sind sich die Forscher relativ einig. Zum einen soll die Oxidation des Ethanols und die Benutzung der Aminoverbindungen als Quelle für Oxidationsmittel und die daraus resultierende Verschiebung des Redoxgleichgewichtes durch eine Verschiebung des Lactat/Pyruvat-Verhältnisses dafür verantwortlich sein[93,53,52], zum anderen die direkte Wirkung des Alkoholmoleküls[52] auf beta-Rezeptoren und die direkte Freisetzung von Katecholaminen aus der Nebenniere [46]. Diese Katecholamine wirken dann

- 1.) auf beta-Rezeptoren in Gefäßen der Leber [93, 46, 34], die durch Vasodilatation den Blutfluß in der Leber erhöhen und damit auch die Aufnahme und den Metabolismus der Aminoverbindungen beeinflussen und
- 2.) auf noch unbekannte Art und Weise können Katecholamine eine Hypoaminoacidämie verursachen [54,125].

In der **Leber** sind sowohl Konzentrationsverminderungen als auch -erhöhungen gefunden worden[129,52], die großenteils mit den oben schon aufgeführten Mechanismen erklärt werden können. Durch die über beta-Rezeptoren stimulierte Vasodilatation wird die Aufnahme von Aminoverbindungen erhöht und somit die Konzentration von einigen Aminosäuren, im speziellen derjenigen mit verzweigten Seitenketten, wie z.B. Glycin und Leucin. Die Verminderung in der Konzentration von anderen Aminoverbindungen kann dem verschobenen Redoxverhältnis zugeschrieben werden, welches durch die Verschiebung des Lactat/Pyruvat-Verhältnisses und der daraus resultierenden Azidose entstehen kann. Wie diese Ergebnisse mit weiteren Auswirkungen zusammenhängen, zeigt die Studie von Fitts und Hoon[36], die postulierten, dass die Ethanol-induzierte Verminderung der Proteinsynthese und -sekretion in der Leber zu einem Verlust des kolloidosmotischen Druckes im Plasma führt. Dies resultiert in Hypovolämie und Reninsekretion, die dann durch die aktivierte Angiotensin II-Aktion auf das Gehirn den Salzappetit und den Durst verursachen, den man im Allgemeinen nach Alkoholgenuss verspürt.

Myopathie des Skelettmuskels tritt nach chronischem Alkoholabusus in ein bis zwei Drittel der Mißbraucher auf[113,142]. Wie von Preedy und Peters gezeigt wurde, vermindert schon eine akute Dosis von Alkohol die Proteinsynthese im Skelettmuskel, was als einer der Gründe für die Myopathie angesehen wird. Die Proteinsynthese wird zum einen durch das verschobene Redoxpotential vermindert, zum anderen durch das nach Oxidation entstandene Acetaldehyd, welches sich kovalent an Proteine oder Bestandteile von Proteinen bindet und dadurch die Synthese hemmt[113].

Bei Konzentrationsmessungen von einigen wenigen Aminosäuren im Muskel sind folgende Ergebnisse gefunden worden[12]. Die Konzentration von

Glutamin hat im Muskel nach Ethanolinjektion signifikant zugenommen, während die Konzentrationen von Glutamat und Alanin unverändert geblieben sind.

Die Wirkungen von Alkohol auf das **Gehirn** spielen in der Forschung eine große Rolle, sind aber durch die Komplexität der Biochemie im Gehirn und ihrer chemischen Prozesse sehr schwer zu erklären. Ein weiterer Grund für die Sonderstellung des Gehirns ist die sog. Blut-Hirn-Schranke, die nicht jede Substanz ungehindert passieren lässt, sondern sehr selektiv ist. Hauptgrund hierfür ist die Sensibilität des Gehirns auf schon kleine Veränderungen im Stoffwechsel und die Regulation fast aller physiologischer Prozesse im Organismus. Nach einer akuten Dosis Ethanol zeigten sich im Gehirn bei vielen Aminosäuren eine Erhöhung der Konzentrationen[103]. In verschiedenen Studien wurden Konzentrationen von GABA ermittelt, da diese beiden Verbindungen eine ähnliche ZNS-depressive Wirkung haben, die man gerne erklärt hätte. Dabei wurden große Diskrepanzen in den Resultaten festgestellt. In einigen Studien fand man keine Veränderung, in anderen eine Erhöhung und in den nächsten eine Verminderung der GABA-Konzentration. Welche dieser Studien nun die tatsächliche Wirkung des Alkohols darstellt, oder ob es vielleicht durch genetische Unterschiede zu diesen verschiedenen Reaktionen in den ausgeführten Studien kommt, ist nicht klar. Vielleicht sind die Reaktionen auch von den unterschiedlichen Hirnregionen, die untersucht worden sind, abhängig. Man vermutet, dass die erhöhten Konzentrationen nach Ethanoladministration auf denselben Mechanismus zurückzuführen sind, der schon in der Leber teilweise für gestiegene Konzentrationen verantwortlich gemacht worden ist; die Vasodilatation, die zu verstärkter Durchblutung und damit verstärkter Aufnahme von Aminoverbindungen geführt hat[103].

Einige weitere Studien beschäftigten sich mit dem Mechanismus der Aufnahme von Aminoverbindungen in das Gehirn[37]. Dabei wurde festgestellt, dass die Wirkungen des Alkohols auf die Aufnahme von Aminosäuren von der Dosis des verabreichten Alkohols und der Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase abhängig sind[37]. Bekannt ist, dass Ethanol die Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase verringert[111]. Welche Zusammenhänge und welche Mechanismen hier eine Rolle spielen, ist noch nicht geklärt.

Die vasodilatierende Wirkung des Alkohols ist mittlerweile auch auf genauere Mechanismen untersucht worden. Dabei ist aufgeklärt worden, dass Ethanol Prostaglandin und NO (Stickoxid) freisetzt, die beide eine Vasodilation zur Folge haben.

### 1.6. Wirkungen von Alkohol auf das endokrine System

Eine der bekanntesten Wirkungen einer akuten Dosis Alkohol, ist die Diurese. Sie wird durch das Hormon **Vasopressin** hervorgerufen, welches durch eine biphasische Antwortkurve auf Ethanol den eigentlichen hemmenden Effekt von Ethanol überwindet [111].

Eine akute Dosis Ethanol setzt vermehrt **ACTH** aus dem Hypothalamus bzw. der Hypophyse frei und verursacht dadurch eine verstärkte **Corticosteronsekretion**[111], die z.B. nach chronischem Genuss zu einem "Pseudo-Cushing"-Syndrom führen kann[111].

Nachdem man anfangs geglaubt hat, dass Ethanol die vordere Hirnanhangsdrüse degenerativ verändert, hat man später festgestellt, dass Alkohol spontan die Freisetzung von **Wachstumshormonen** hemmt[111].

Der Alkohol verursacht eine **Insulin**freisetzung, die damit auf die zuerst entstehende Hyperglykämie reagiert. Außerdem wird durch den Alkohol die Glukoneogenese gehemmt[111], so dass am Ende eine Hypoglykämie resultiert[93,111]

Eine weitere wichtige Wirkung des Alkohols ist die Freisetzung von **Katecholaminen**(s.o.) aus der Nebennierenrinde[52,46]. Vermutet wird, dass der Ethanol an sich, sprich die Ethanolmoleküle, diese Freisetzung verursachen. Die Wirkung dieser freigesetzten Katecholamine wurde schon kurz erwähnt und wird später noch besprochen.

### 1.7. Arbeitshypothese

Wie uns aus vorhergegangenen Studien bekannt ist, verändert eine akute Dosis Ethanol die Konzentrationen von bestimmten Aminosäuren und verwandten Verbindungen im Plasma von Ratten. Was bisher kaum untersucht worden ist,

sind die Auswirkungen einer solchen Dosis Ethanol auf die Aminosäurekonzentrationen in anderen Organen. Aus diesem Grund haben wir zusätzlich zum Plasma die Organe Aorta, Herz, Pancreas und Bronchus ausgewählt, um mit Hilfe einer HPLC (high performance liquid chromatography) - einer fluorimetrischen Methode - die Konzentrationen von ca. 40 Aminoverbindungen dieser Organe zu bestimmen. Das Vorgehen in dieser Studie soll wie folgt geschehen:

- 1) Injektion einer Kochsalzlösung in acht Kontrollratten und einer Ethanolösung (2g/kg, i.p.) in acht Experimentalratten mit einer Inkubationszeit von 30 Minuten und anschließender Dekapitation der Versuchstiere.
- 2) Bestimmung der Konzentrationen von ca. 40 Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Plasma, Aorta, Herz, Pankreas und Bronchus in den Ratten der Kontroll- und Experimentalgruppe.
- 3) Vergleich der gewonnenen Ergebnisse mit Ergebnissen aus anderen Studien und Vergleich der Konzentrationen zwischen den Organen unserer Studie.
- 4) Erstellen von Referenzwerten für später nachfolgende Forschungen

Es gibt für Plasma, Leber, Muskel und Gehirn einige Referenzwerte, die aber nur einige wenige selektierte Aminosäuren betreffen. Für den Transport der Aminoverbindungen gibt es einige untersuchte Systeme, die aber weder voll geklärt sind, noch genügend Aufschluss über die komplexen Zusammenhänge der Transportmechanismen zwischen Plasma und Organen bieten. Aus den nun folgenden Fragestellungen sollen sich mit Hilfe unserer Ergebnisse neue Zusammenhänge und evtl. Aufschlüsse ergeben:

- 1) Welche signifikanten Konzentrationsveränderungen lassen sich in den von uns untersuchten Organen nach Ethanolinjektion finden?
- 2) Sind die gefundenen Unterschiede auch signifikant für die Gewebe/Plasma-Verhältnisse oder ergeben sich evtl. neue Signifikanzen?



- 3) Existieren Korrelationen in den Gewebe/Plasma-Verhältnissen von den untersuchten Aminoverbindungen in den Kontrolltieren und nach Ethanolinjektion?
- 4) Gibt es Signifikanzen in Verhältnissen und Korrelationen von bestimmten Verbindungen untereinander in den Kontrolltieren und nach Ethanolinjektion?
- 5) Sind aus den gefundenen Ergebnissen Rückschlüsse auf Stoffwechselfvorgänge und Transportmechanismen in Organen von Ratten zu ziehen und können diese Rückschlüsse zur Aufklärung von Zusammenhängen dienen?
- 6) Können diese Resultate die therapeutischen und/oder toxischen Wirkungen der Ethanoladministration erklären?

## **2. Allgemeine Methodik**

### **2.1. Allgemeines**

Als Versuchstiere für diese Untersuchung wurden 16 männliche Sprague-Dawley Ratten verwendet, bezogen aus den Zivic Miller Laboratorien in Zelionpole, Pennsylvania, USA. Das Körpergewicht dieser Ratten lag zwischen 200 - 300 g. Vor Beginn der Experimente wurden die Tiere für drei Tage bei freiem Zugang zu Wasser und Futter sowie einer Temperatur von  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  und einer Luftfeuchtigkeit von  $55 \pm 10\%$  gehalten. Zur Standardisierung wurden die Ratten alle in einem Raum untergebracht, in dem ein künstlicher 12 Stunden Hell-Dunkel-Zyklus mit einer Helligkeitsphase zwischen 8-12 Stunden gegeben war. Jeweils drei Ratten lebten zusammen in einem Plexiglasbehälter. Alle Versuchstiere wurden unter der gleichen Diät gehalten und in ihren Versuchsgruppen zur gleichen Tageszeit dekapitiert.

#### **2.1.1. Präparation der Gewebe**

An zwei aufeinander folgenden Tagen wurde dann allen Ratten entweder eine Kochsalzlösung oder eine Alkohollösung mit einer Konzentration von jeweils 2g/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Nach 30 Minuten wurden die Ratten der Kontrollgruppe und der Experimentalgruppe mit einer Ratten-Guillotine dekapitiert. Nach der Dekapitation wurde das Blut aus dem Körperstamm in einem vorgekühlten Glasgefäß, welches 200 I.E. Heparin (Elkins-Sinn Inc., NewJersey) enthielt, aufgefangen und unmittelbar danach bei  $5^\circ\text{C}$  und 4000 U/min für ca. 10 Minuten zentrifugiert. Das Plasma wurde abpipettiert und anschließend bei  $-80^\circ\text{C}$  tiefgefroren. Direkt im Anschluss wurden die Ratten zur Gewebegewinnung seziiert. Nach einem abdominalen Longitudinalschnitt wurde der Pankreas freipräpariert, von dem umgebenden Gewebe abgesetzt und von Fettgewebe befreit. Danach wurde der Thorax eröffnet und die thorakale Aorta freipräpariert. Nach Entnahme entfernten wir von der Aorta vorsichtig die umgebenden Strukturen wie Nervenplexus, Fett -

und Bindegewebe. Als nächstes wurde das Herz von seinen Hauptgefäßen abgesetzt und in toto entnommen. Das gesamte Lungen-Bronchien-Paket samt Trachea wurde von den angrenzenden Geweben befreit und entnommen. Danach wurden die Bronchien einer Seite, von dem Hauptbronchus ausgehend, so weit wie möglich mit einer Pinzette bis in die Lungenperipherie weiterverfolgt und freipräpariert.

Jede einzelne Gewebeprobe wurde sofort nach der Entnahme in Aluminiumfolie eingewickelt und mit Trockeneis tiefgefroren. Nach Beendigung der Präparation wurden die Spezimenproben dann in einem Gefrierschrank bei  $-80^{\circ}\text{C}$  bis zu 70 Tagen gelagert .

### 2.1.2. Homogenisation der Gewebeproben

Von den tiefgefrorenen Geweben, die kurzzeitig aufgetaut wurden, wurde jeweils eine kleine Probe entnommen, wobei darauf geachtet wurde, dass die Probe als Querschnitt des gesamten Gewebes entnommen wurde, um so alle Gewebsschichten der verschiedenen Organe zu erfassen (beim Herzen wurde eine Gewebeprobe aus allen Wandschichten des Ventrikels entnommen). Die so gewonnenen Proben wurden mit einer Chemikalienwaage abgewogen (Sartorius analytic A200S, Brinkmann Instruments Inc., New Jersey, USA), so dass das Gewicht der Gewebeproben möglichst zwischen 7 und 25 mg lag. In einem Glas/Glas-Homogenisator mit aufgerauhtem Pistill (2ml, Kontes, New Jersey, USA) sind dann die Proteine der Gewebeproben durch Zugabe von PCA-Lösung (0.32n Perchlorsäure) denaturiert worden. Die PCA-Lösung enthielt außerdem 2.632nmol/ml MFP (Meta-Fluoro-Phenylalanin) als internen Standard. Diese zum Gewebe hinzu gegebene PCA-Lösung wurde vor Zugabe zu der Gewebeprobe so verdünnt, dass im später entstehenden Homogenisat immer eine MFP-Konzentration von 2.5nmol/ml vorlag. Das Volumen der PCA-Lösung wurde durch einen Verdünnungsfaktor, der für die verschiedenen Gewebe vorbestimmt worden ist, errechnet. Dieser Verdünnungsfaktor reichte von 1/20 für Plasma über 1/40 für die Aorta bis hin zu 1/160 für den Pankreas, das Herz und die Bronchien.

Die Gewebeproben wurden im Homogenisator unter Kühlung mit Eis homogenisiert, bis keine Gewebereste mehr zu beobachten waren und ein

gleichmäßig getrübbtes Homogenisat vorlag. Dieses Homogenisat wurde nun bei 4000 U/min und 4°C für 10 Minuten zentrifugiert. Der aus diesem Vorgang verbleibende Überstand des Homogenisates stand somit der unter **2.1.3.** beschriebenen Analyse zur Verfügung.

### 2.1.3. Aminosäureanalyse

Die Konzentrationen der Aminosäuren in den Gewebeproben wurden gegen einen produzierten, erworbenen Aminosäurestandard (**1.**) gemessen. Dieser enthielt in einer 0.32n- Perchlorsäurelösung (PCA) bis auf Threonin (10nmol/ml) und Methionin (1.25nmol/ml) alle 20 Standardaminosäuren in einer Konzentration von 2.5 nmol/ml. Dieser Standardprobe waren außer den 20 Standardaminosäuren noch die Verbindungen Phosphoserin, Taurin, Ethanolamin, Phosphoethanolamin, oxidiertes und reduziertes Glutathion, alpha-Aminoapadicsäure, Citrullin, alpha-Aminobuttersäure, Cystathion, beta-Alanin, beta-Aminoisobuttersure, Ammoniak, Hydroxylysin, Ornithin, 1-methyl-Histidin und 3-methyl-Histidin, Anserin, Carnosin, Homocarnosin und Meta-Fluoro-Phenylalanin (MFP) zugesetzt. Alle diese Aminoverbindungen wurden ebenfalls in einer Konzentration von 2.5 nmol/ml hinzugefügt.

Zur Separation der Aminosäuren wurden vier verschiedene Lithiumzitat-Elutionspuffer (**2.**) mit unterschiedlichem pH-Wert verwendet: Puffer I (pH=2.7), Puffer II (pH=2.95), Puffer III (pH=3.34), Puffer IV (pH=4.6). Als Ingredienzien waren in den einzelnen Puffern folgende Substanzen enthalten:

*Puffer I - III:* 160ml einer 3-molaren Citratlösung, 46.77ml einer 12-molaren Lithiumhydroxidlösung, 25ml Thiodiglykol und 0.5ml Oktansäure

*Puffer IV:* 175ml einer 3-molaren Citratlösung, 134.4ml einer 12-molaren Lithiumhydroxidlösung, 25ml Thiodiglykol und 0.5ml Oktansäure

Nach Zusammengabe der Ingredienzien und dem Auffüllen des Ansatzes auf 5 l mit Aqua dest. wurde die Lösung durch einen Ammonium-absorbierenden Filter gereinigt und der pH-Wert mit einer 3-molaren Lithiumhydroxid-Lösung auf die vorgegebenen, oben angegebenen pH-Werte eingestellt.

Zur Detektion der Aminosäuren im Eluat wurde eine fluorimetrisch wirkende

Lösung **(3.)** verwendet. Diese Lösung enthielt 2g Ophtaldialdehyd in 50ml Ethanol gelöst und 306.15g eines Borsäurepuffers . Dieses Gemisch wurde in 5 Liter Aqua dest. aufgelöst und mit Lithiumhydroxidpulver auf einen pH-Wert von 9.6 eingestellt. Für eine Analyse wurden 250ml dieser Lösung benötigt, denen dann noch 375 µl 2-Mercaptoethanol zur Detektion der schwefelhaltigen Aminoverbindungen beigefügt werden mussten.

#### 2.1.4. Analytische Technik

Die Konzentrationen der einzelnen Aminosäuren und ihrer verwandter Verbindungen wurden mit Hilfe einer – High Liquid Performance Chromatographie – ( HPLC ), die auf der Methode der Ionenaustauschchromatographie beruht, bestimmt. Wir benutzten ein 1m Mikrokaliber Stainless-Stahlrohr und füllten dieses mit einem Kationenaustauscher-Harz, das zur Auftrennung der Aminosäuren und der anderen verwandten Verbindungen notwendig ist. Die Absorbtionen für die einzelnen, aufgetrennten Verbindungen wurden mit einem UV-Detektor gemessen, was durch die Verwendung des fluorimetrisch wirkenden Ophtaldialdehyd möglich war.

Zu Anfang eines jeden Experimentes musste die Mikrokalibersäule mit 0.5 n Lithiumhydroxid regeneriert werden und danach wurde der wie unter 2.1.2. entstandene Überstand der homogenisierten Gewebeprobe mit Hilfe eines Hochdruckventiles auf die Mikrokalibersäule aufgetragen. Während der Analyse wurde je nach Auftreten der Peaks der Aminoverbindungen die Arbeitstemperatur mit Hilfe einer Heizapparatur verändert, die durch das Gegenstromprinzip das Stainless-Stahlrohr aufgeheizt oder abgekühlt werden konnte. Diese Temperatur betrug 60°C nach t = 0 min. und nach t = 85 min., 22°C nach t = 10 min. und 70°C nach t = 300 min. Diese Temperaturen beruhen auf Erfahrungswerten und konnten zur Verbesserung der Auftrennung um einige Minuten variieren. Zu Anfang der Prozedur betrug der Druck in dem Stainless-Stahlrohr bei 60°C 3800psi (= 327kg/cm<sup>2</sup>) und veränderte sich umgekehrt proportional zu den Temperaturmanipulationen. Die Puffer I-IV **(2.)** wurden ihrer numerischen Reihenfolge nach (*Puffer I* bei t = 0 min.; *Puffer*

*II* bei  $t = 90$  min.; *Puffer III* bei  $t = 180$  min.; *Puffer IV* bei  $t = 300$  min.) über eine Hochdruckpumpe mit einer Flussgeschwindigkeit von  $0.185$  ml/min durch die Harz-Säule gepumpt. Der ansteigende pH-Wert und die Variation von Temperatur und Druck ermöglichten die Ablösung der einzelnen Aminoverbindungen vom Austauschharz zu verschiedenen Zeitpunkten.

Das Eluat, das über die Säule geleitet wurde, wurde dann über ein T-Stück mit der Detektionslösung **(3.)** aus einer zweiten Pumpe kommend vermischt und durch einen UV-Detektor mit einem 'Corning 7-60'-Primärfilter und einem 'Wratten 2-A'-Sekundärfilter geleitet ( Amino Fluoro-Monitor, Modell JA-7461, Travenol Laboratorien, Inc. Savage, USA ). Das vom Detektor abgegebene Signal, das proportional zur Absorption ist, wurde von einem Zwei-Wege-Schreiber aufgezeichnet.

Um die Konzentrationen der einzelnen Aminoverbindungen zu bestimmen, wurde die Peakhöhe der jeweiligen Verbindungen gemessen und unter Einbeziehung eines HPLC-Standards **(1.)**, eines bei jeder Analyse mitlaufenden internen Standards (MFP, s.o.) sowie unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors der einzelnen Gewebe die Konzentrationen der Aminosäuren und ihrer verwandten Verbindungen in nmol/ml Plasma oder nmol/g Nassgewicht bei den Geweben errechnet. Als Grundlage für diese Berechnung ist die lineare Korrelation der Peakhöhe der einzelnen Aminoverbindungen zu ihrer Konzentration zu nennen .

Für dieses Instrument betrug die durchschnittliche Reproduzierbarkeit der Resultate eines Standarddurchlaufs  $105 \pm 5.5$  %. Die Variation zwischen den Analysen derselben Probe eines Rattenplasmas betrug weniger als 10 %. Die Sensitivität der Methode unterscheidet sich für die einzelnen Verbindungen. Sie schwankt zwischen  $15\text{pmol/ml}$  für GABA und  $200\text{pmol/ml}$  für reduziertes Glutathion als kleinste messbare Konzentrationen.

## **2.2. Spezielle Methodik**

### 2.2.1. Verabreichung der Injektion

In der Kontroll - sowie der Experimentalgruppe befanden sich jeweils zwischen sechs und acht der Ratten. In der Kontrollgruppe sowie der Ethanolgruppe wurden alle Ratten morgens (10.23-13.30) dekapitiert. Allen Ratten wurde eine Konzentration von 2g/kg Körpergewicht injiziert, wobei die Ratten der Kontrollgruppe eine physiologische Kochsalzlösung (0.9 %) und die Ratten der Experimentalgruppe eine Ethanollösung injiziert bekamen. Das verwendete Ethanol(Pharmaco, 100%) wurde aus der JeffersonApotheke, Philadelphia, USA bezogen.

Die Präparation der Gewebe und des Plasmas für die HPLC-Analyse wurde entweder kurz vor Versuchsbeginn durchgeführt und somit dem Apparat direkt zugeführt oder es wurden mehrere Eluate auf einmal hergestellt, die nach der Zentrifugation wieder unmittelbar bei - 80 C tiefgefroren und dann wieder kurz vor der HPLC-Analyse aufgetaut wurden.

### 2.2.2. Kalkulationen und Statistik

Das Programm DOS LOTUS 1-2-3, für IBM-Computer, copyright by Lotus Development Corporation wurde für die Berechnung der Konzentrationen der Aminoverbindungen und die Datenauflistung genutzt. Zur Berechnung der Statistik und der Erstellung der Graphen dienten bei der der Statistik das SAS SYSTAT 5.2 Programm für Macintosh, copyright by Systat Inc. Evanston, Illinois, USA, und für die Erstellung der Tabellen WORD 5.0 für Macintosh, copyright

Um die Unterschiede zwischen den Kontroll- und Ethanolgruppen zu eruieren, wurden ein Kruskal-Wallis-Test als auch ein unabhängiger t-Test durchgeführt. Der Pearson-Test wurde bei Erforschung bestehender Korrelationen zwischen und innerhalb der Gewebe durchgeführt. Bei allen statistischen Analysen wurden in den Kontroll- und Ethanolgruppen zwischen sechs und acht

Messungen zugrunde gelegt.

Der **Unabhängige t-Test** ist ein statistischer Signifikanztest für Werte, die nicht aus ein und derselben Gruppe kommen. Für seine Berechnungen bezieht er Normalverteilung, Mittelwert und Standardabweichung der Wertegruppen (Kontroll- und Ethanol) mit ein und gibt mit seinem p-Wert die Größe der Wahrscheinlichkeit an, bei der die Ergebnisse signifikant verändert sind.

Der **Kruskal-Wallis-Test** ist ein nicht-parametrischer Signifikanztest und damit unabhängig von der Normalverteilung der Werte um einen Mittelwert. Vielmehr ist dies ein Test, welcher einzelne Werte miteinander vergleicht und im Sinne von "hoch" und "tief" beurteilt. Dies ist bei den in diesen Experimenten gewonnenen Daten deshalb so interessant, da die Werte nicht immer normalverteilt sind und die Streuung manchmal sehr groß ist, d. h. es gibt sehr viele Extremwerte. Der Einfluss dieser auf parametrische Signifikanztests wie zum Beispiel den "t-Test" ist sehr stark, vor allem bei einem Stichprobenumfang von  $n=6$  bis  $n=8$ . Der Kruskal-Wallis-Test bildet dabei Rangsummen einer Wertekette. Jedem Wert wird ein Rang zugeordnet (die kleinste Konzentration besitzt Rang 1, die Größte Rang 10-16 je nach Stichprobenumfang) und die Rangwerte werden danach für die einzelnen Gruppen addiert. Die so gewonnenen Rangsummen werden dann bei vorgewählter Irrtumswahrscheinlichkeit und vorgegebenem Stichprobenumfang statistisch auf signifikante Unterschiede hin analysiert. Daher wurden in dieser Untersuchung auch beide statistischen Signifikanztests durchgeführt, um so mit Sicherheit alle signifikanten Unterschiede zu erfassen. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wird einheitlich mit 5% festgelegt.

Als Korrelationstest wurde die Methode nach Pearson verwendet. Dieser Test beruht auf der Betrachtung kontinuierlicher Variablen, wie es in unseren Experimenten der Fall war. Der angegebene Korrelationskoeffizient "r" beträgt immer Werte zwischen  $r=-1$  und  $r=+1$ . Je näher ein Korrelationskoeffizient bei  $r=1$  oder  $r=-1$  liegt, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit für das Bestehen einer Korrelation der untersuchten Variablen. Der Wert  $r=0$  besagt im Gegensatz dazu, dass keine Korrelation zwischen den Variablen besteht und damit die sog. Alternativhypothese (H<sub>0</sub>) zutrifft.

Ein Korrelationskoeffizient  $r < 0.05$  und  $r < -0.05$  besagt, dass zwischen den Variablen immer ein rechnerischer Zusammenhang besteht. Dies bedeutet eine



mehr oder weniger lose Verkettung beider untersuchter Parameter. Jener dann bestehende lineare Zusammenhang kann dabei zwei verschiedene Richtungen besitzen, da der Korrelationskoeffizient, wie oben beschrieben, bei  $r = 0$  entweder positive oder negative Werte haben kann. Ist der Korrelationskoeffizient positiv, so sind die Parameter der Korrelation in ihren Werten gleichläufig (z.B.: Eine Zunahme der Variablen  $x$  geht mit einer Zunahme der Variablen  $y$  einher), ist er negativ so sind die Variablen gegenläufig (z.B.: Eine Zunahme der Variablen  $x$  geht mit einer Abnahme der Variablen  $y$  einher). Diese mit diesem Korrelationstest möglichen Aussagen sind umso wahrscheinlicher zutreffend, je näher sie den Extremwerten der Analyse, nämlich  $r=+1$  oder  $r=-1$  kommen.

Da der Stichprobenumfang unserer Experimente lediglich  $n=6$  bis  $n=8$  betrug, war es schwierig eine Korrelation zwischen einzelnen Verbindungen oder bestimmten Verbindungsverhältnissen feststellen zu können. Auch hier wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% zugrunde gelegt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Tabellen

<b>Tab. 1a</b>	<b>Plasmaspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Kontrollgruppe</b>								
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30	13.30	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	Ratte 8	MW± SA 1-8
ARG	109	139	90.5	99.1	71.1	163	158	147	122 ± 34.1
CIT	38.6	33.8	32.5	29.8	51.4	51.8	45.3	44.5	41 ± 8.5
ORN	14.5	41.6	21.3	40.5	68.1	17.6	35.5	42.6	35.2 ± 17.5
ASP	9.0	12.2	13.2	12.8	10.3	9.7	17.3	9.7	11.8 ± 2.7
GLU	48.6	85.7	70.9	55.1	76.3	57.8	101	119	76.8 ± 24.2
NH <sub>3</sub>	10.8	6.4	10.2	13.4	8.0	5.6	11.5	11.6	9.7 ± 2.7
Konzentrationen in nmol/ml mit Mittelwert und Standardabweichung von acht mit Kochsalzlösung injizierten Kontrollratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation									

<b>Tab. 1b</b>	<b>Plasmaspiegel von Taurin in Ratten der Kontrollgruppe</b>								
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30	13.30	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	Ratte 8	MW ± SA 1-8
Taurin	128	202	179	149	170	176	260	188	182 ± 39.3
Konzentrationen in nmol/ml mit Mittelwert und Standardabweichung von acht mit Kochsalzlösung injizierten Kontrollratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation									

<b>Tab. 1c</b>	<b>Plasmaspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Kontrollgruppe</b>								
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30	13.30	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	Ratte 8	MW ± SA 1-8
PSER	3.1	7.3	3.5	19.8	13.1	2.2	6.2	2.1	6.2 ± 4.4
PEA	7.2	7.9	12.1	7.3	7.5	6.1	15.8	11.4	9.4 ± 3.3
THR	79.0	111	98.3	93.1	128	117	137	121	110 ± 19.3
SER	74.4	88.1	82.5	84.2	106	110	116	115	96.9 ± 16.4
ASN	41.1	62.7	41.0	44.3	53.3	51.8	74.9	72.2	55.2 ± 13.5
GLN	464	513	402	471	578	520	546	588	510 ± 63.0
AAA	5.1	18.4	9.0	8.3	12.4	9.2	14.8	8.5	10.7 ± 4.2
GLY	114	143	152	170	181	173	217	249	175 ± 42.2
ALA	175	208	185	125	158	145	213	231	180 ± 36.0
A-ABA	3.8	6.8	2.7	5.6	6.3	6.8	5.4	4.6	5.2 ± 1.5
VAL	50.7	80.4	106	41.2	82.7	45.4	77.6	123	75.8 ± 29.2
CYS	15.9	13.9	20.6	19.1	16.5	21.2	13.4	21.9	17.8 ± 3.8
MET	19.8	24.8	29.4	14.6	23.6	26.3	29.9	36.2	25.6 ± 6.6
CYST	1.6	2.9	4.2	1.8	4.7	4.2	3.5	3.1	3.2 ± 1.1
ILE	32.8	44.6	47.8	35.6	52.6	35.2	43.2	57.6	43.7 ± 8.8
LEU	67.2	73.6	77.9	62.4	89.1	69.3	75.9	93.3	76.1 ± 10.6
TYR	34.6	40.5	44.1	25.6	28.5	29.8	45.3	49.1	37.2 ± 8.8
PHE	30.8	34.2	34.4	21.8	34.0	35.2	33.3	46.1	33.7 ± 6.6
B-ALA	3.9	2.6	3.1	2.4	3.0	4.8	3.6	3.8	3.4 ± 0.8
TRP	90.9	84.0	84.5	67.5	103	70.1	98.0	130	91.0 ± 19.9
EA	8.6	10.4	12.6	11.4	12.8	7.7	12.5	11.4	10.9 ± 1.9
LYS	87.6	279	160	214	231	221	333	269	223 ± 75.5
HIS	20.5	53.3	26.3	40.0	45.6	63.1	52.1	37.5	42.3 ± 14.2
1-MET HIS	3.0	4.5	5.2	5.6	3.1	3.2	3.9	3.1	4.0 ± 1.0
3-MET HIS	3.0	6.1	7.7	3.5	3.8	5.1	4.3	2.5	4.5 ± 1.7
ANSER	3.6	6.8	5.7	3.3	5.1	3.1	7.5	5.4	5.1 ± 1.6
CAR	5.7	10.1	6.2	4.5	9.2	4.1	7.4	7.9	6.9 ± 2.2

Konzentrationen in nmol/ml mit Mittelwert und Standardabweichung von acht mit Kochsalzlösung injizierten Kontrollratten  
n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 2a</b>	<b>Plasmaspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Ethanolgruppe</b>							
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	13.03	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW ± SA 1-7
ARG	58.0	106	73.9	95.0	94.0	76.8	76.9	83.1 ± 16.2
CIT	39.6	38.5	52.6	43.8	31.4	35.8	42.0	41.0 ± 6.7
ORN	43.2	20.4	14.2	45.8	35.1	57.5	13.6	33.0 ± 17.1
ASP	11.7	10.4	6.9	7.4	8.4	6.4	7.8	8.4 ± 1.9
GLU	44.8	57.2	50.6	80.8	69.9	50.9	55.2	59.0 ± 12.6
NH <sub>3</sub>	15.0	6.8	9.6	9.4	13.8	11.2	7.5	10.5 ± 3.1
Konzentrationen in nmol/ml mit Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Ethanol injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D.=Zeitpunkt der Dekapitation								

<b>Tab. 2b</b>	<b>Plasmaspiegel von Taurin in Ratten der Ethanolgruppe</b>							
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	13.03	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW ± SA 1-7
Taurin	118	107	157	216	150	145	137	147 ± 35.3
Konzentrationen in nmol/ml mit Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Ethanol injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D.=Zeitpunkt der Dekapitation								

Tab. 2c	Plasmaspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Ethanolgruppe							
	Z.d.D.	10.23	10.25	11.03	11.44	12.26	12.28	13.03
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW ± SA 1-7
PSER	2.8	4.3	2.8	2.7	1.9	4.1	3.7	3.2 ± 0.9
PEA	5.0	5.8	6.0	7.4	8.6	8.9	7.5	7.0 ± 1.5
THR	102	105	100	113	89.0	97.0	91.0	100 ± 8.3
SER	103	93.0	69.4	75.9	72.5	84.8	61.6	80.0 ± 14.5
ASN	47.8	70.3	45.5	42.6	44.9	38.3	54.2	49.0 ± 10.5
GLN	453	687	556	525	507	490	427	521 ± 85.1
AAA	7.3	9.2	5.0	9.1	6.1	6.1	8.0	7.3 ± 1.6
GLY	164	147	110	127	140	170	124	140 ± 21.6
ALA	126	141	168	124	115	147	115	134 ± 19.2
A-ABA	4.6	6.9	12.6	4.0	4.6	2.9	6.0	5.9 ± 3.2
VAL	70.6	95.3	87.7	97.2	56.8	76.6	79.2	80.5 ± 14.3
CYS	17.0	18.1	24.9	17.5	23.0	21.9	20.1	20.4 ± 3.3
MET	19.6	37.1	23.6	25.6	22.3	25.0	16.3	24.2 ± 6.5
CYST	1.6	2.0	3.2	1.6	3.9	4.8	1.7	2.7 ± 1.3
ILE	37.9	59.7	29.7	39.5	28.1	39.1	36.7	38.7 ± 10.3
LEU	59.2	86.3	45.8	78.7	43.2	64.2	53.9	61.6 ± 16.1
TYR	34.3	28.7	21.6	35.4	28.8	40.8	35.8	32.2 ± 6.3
PHE	27.2	23.0	21.4	28.8	21.3	27.0	26.2	25 ± 3.1
B-ALA	2.2	2.1	2.3	4.4	3.3	1.9	1.3	2.5 ± 1.1
TRP	82.6	76.2	40.9	92.7	67.2	86.0	64.1	72.8 ± 17.3
EA	19.5	8.1	11.0	9.8	9.6	11.1	6.7	10.8 ± 4.1
LYS	123	160	103	276	250	160	76.5	164 ± 74.2
HIS	34.0	31.3	26.3	49.1	41.9	32.2	22.6	33.9 ± 9.0
1-MET	3.0	2.9	3.7	4.2	3.3	1.7	3.8	3.2 ± 0.8
HIS								
3-MET	4.0	3.6	3.8	3.9	3.2	2.0	6.3	3.8 ± 1.3
HIS								
ANSER	3.7	4.0	2.0	5.7	3.9	1.9	7.6	4.1 ± 2.0
CAR	3.4	7.6	4.9	7.0	6.4	3.0	6.6	5.6 ± 1.8

Konzentrationen in nmol/ml mit Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Ethanol injizierten Ratten  
n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D.=Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 3a</b>	<b>Aortaspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Kontrollgruppe</b>							
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW± SA 1-7
ARG	201	190	186	307	198	154	146	198 ± 52.9
CIT	54.6	60.2	63.5	45.9	43.7	24.1	82.1	53.5 ± 18.2
ORN	159	141	67.1	94.6	106	35.2	59.1	94.5 ± 44.6
ASP	354	257	227	558	175	179	251	286 ± 134
GLU	1156	1201	1426	1448	1424	1471	1421	1364 ± 129
NH <sub>3</sub>	184	121	135	115	166	171	229	160 ± 40.1
Konzentrationen in nmol\g mit Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Kochsalzlösung injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation								

<b>Tab. 3b</b>	<b>Aortaspiegel von Taurin in Ratten der Kontrollgruppe</b>							
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW ± SA 1-7
Taurin	5686	3933	3100	4263	2790	4832	4546	4164 ± 999
Konzentrationen in nmol\g mit Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Kochsalzlösung injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation								

<b>Tab. 3c</b>	<b>Aortaspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Kontrollgruppe</b>							
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW ± SA 1-7
PSER	18.8	18.6	21.8	12.6	10.3	37.0	15.1	19.2 ± 8.8
PEA	459	517	465	332	423	377	381	422 ± 63.3
GSH	1255	849	802	1317	1602	1117	681	1089 ± 329
THR	293	378	263	307	343	368	299	321 ± 42.2
SER	478	625	285	293	335	325	342	383 ± 124
ASN	196	213	156	213	210	144	176	187 ± 28.7
GLN	1229	967	711	915	1201	989	955	995 ± 176
AAA	7.6	21.3	6.0	6.0	17.4	13.1	7.0	11.2 ± 6.1
GLY	763	932	580	679	976	803	919	807 ± 145
ALA	967	1302	675	1150	1210	808	961	1010 ± 224
A-ABA	4.1	4.9	7.8	6.5	6.0	8.4	3.9	5.9 ± 1.8
VAL	190	192	170	193	153	110	140	164 ± 31.5
MET	95.1	65.1	63.2	56.0	49.1	33.2	48.7	58.6 ± 19.3
ILE	124	120	95.5	98.6	93.7	61.6	88.6	97.4 ± 20.7
LEU	227	205	169	192	164	113	163	176 ± 36.5
TYR	133	118	92.9	86.9	78.0	94.3	87.8	102 ± 13.9
PHE	141	102	75.0	83.1	84.0	73.8	68.7	89.6 ± 25.0
B-ALA	17.8	10.5	14.1	10.2	17.8	13.2	13.9	13.9 ± 3.1
GABA	12.7	9.2	15.0	18.1	19.5	5.9	14.1	13.5 ± 4.8
TRP	89.7	61.2	53.6	47.4	67.2	36.3	51.8	58.2 ± 17.0
EA	236	397	341	144	208	75.3	292	242 ± 112
LYS	262	272	237	288	332	205	327	275 ± 45.8
HIS	94.7	164	61.7	67.5	105	67.1	114	96.3 ± 36.3
1-MET HIS	3.0	3.3	3.2	4.6	5.0	3.5	7.2	4.3 ± 1.5
3-MET HIS	2.9	4.1	4.0	6.2	3.0	4.0	11.6	5.1 ± 3.1

Konzentrationen in nmol/g mit Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Kochsalzlösung injizierten Ratten  
n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 4a</b>	<b>Aortaspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
ARG	270	144	141	151	167	200	179 ± 49.7
CIT	41.4	63.1	68.2	58.3	72.0	66.7	61.6 ± 10.9
ORN	53.0	74.0	66.2	59.3	52.8	61.0	61.1 ± 8.2
ASP	172	130	166	227	223	256	196 ± 47.1
GLU	1494	1287	898	1918	1402	2200	1533 ± 464
NH <sub>3</sub>	131	82.3	73.8	109.3	96.1	117	102 ± 21.6
Konzentrationen in nmol\g mit Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

<b>Tab. 4b</b>	<b>Aortaspiegel von Taurin in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
Taurin	1502	3397	3290	3808	2985	3389	3062 ± 808
Konzentrationen in nmol\g mit Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							



Tab. 4c	Aortaspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Ethanolgruppe						
	Z.d.D.	10.23	10.25	11.03	11.44	12.26	12.28
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW ± SA 1-6
PSER	22.0	18.9	37.2	39.5	29.4	18.8	27.7 ± 9.2
PEA	317	397	282	570	527	306	400 ± 122
GSH	690	172	923	679	762	400	604 ± 271
THR	315	252	296	328	401	386	329 ± 56.0
SER	405	219	281	324	360	507	349 ± 100
ASN	216	124	141	156	191	229	176 ± 42.3
GLN	1024	912	1204	1609	1198	767	1119 ± 293
AAA	8.5	9.0	22.9	13.0	10.6	12.0	12.7 ± 5.3
GLY	797	843	657	1192	1207	1544	1040 ± 332
ALA	1401	950	1021	1015	1287	1004	1113 ± 184
A-ABA	5.1	6.0	5.3	4.2	3.8	4.7	4.8 ± 0.8
VAL	255	114	125	118	143	190	157 ± 55.2
MET	107	40.1	34.3	48.5	54.4	91.1	62.5 ± 29.4
ILE	161	60.8	53.2	68.5	81.0	123	91.1 ± 42.0
LEU	288	112	130	133	152	210	154 ± 87.2
TYR	135	57.9	67.9	75.5	93.7	113	90.5 ± 29.3
PHE	142	52.7	61.7	65.8	74.1	87.5	80.6 ± 32.3
B-ALA	16.2	15.0	12.7	18.0	15.0	19.4	15.9 ± 2.4
GABA	11.3	9.5	16.7	9.9	8.6	30.3	14.4 ± 8.3
TRP	75.4	31.2	36.4	40.2	43.7	54.2	46.8 ± 16.0
EA	260	210	109	133	106	648	244 ± 207
LYS	313	274	258	316	215	440	302 ± 77.1
HIS	94.0	84.2	71.2	90.6	82.7	129	92.0 ± 19.9
1-MET HIS	4.0	5.2	4.4	6.5	4.0	4.5	4.8 ± 1.0
3-MET HIS	2.2	3.1	3.4	5.7	4.5	3.6	3.7±1.2

Konzentrationen in nmol\g mit Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten  
n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 5a</b>	<b>Herzspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Kontrollgruppe</b>						
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
ARG	574	358	469	397	278	263	390 ± 118
CIT	128	198	194	149	132	206	168 ± 35.4
ORN	174	106	166	182	80.1	81.7	132 ± 47.6
ASP	512	489	673	760	700	451	598 ± 129
GLU	5378	4949	4752	4889	3380	3930	4546 ± 742
NH <sub>3</sub>	518	316	408	366	312	322	374 ± 79.8
Konzentrationen in nmol/g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Kochsalzlösung injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

<b>Tab. 5b</b>	<b>Herzspiegel von Taurin in Ratten der Kontrollgruppe</b>						
Z.d.D	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW ± SA 1-6
Taurin	24766	17011	29137	24144	18235	16651	21657 ± 5102
Konzentrationen in nmol/g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Kochsalzlösung injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

Tab. 5c	Herzspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Kontrollgruppe						
	Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW ± SA 1-6
PSER	76.0	64.1	65.9	43.4	56.1	46.7	58.7 ± 12.4
PEA	415	315	396	220	303	193	272 ± 126
GSH	1562	4597	3027	2037	2988	5808	3337 ± 1597
THR	299	285	319	291	156	378	288 ± 73.1
SER	766	459	390	617	349	491	512 ± 155
ASN	670	603	480	625	417	383	509 ± 155
GLN	12097	7868	10267	7263	5822	6270	8264 ± 2442
AAA	15.0	28.6	15.6	53.4	31.5	22.9	27.8 ± 14.2
GSSG	73.6	118	76.6	102	107	104	100 ± 23.1
GLY	553	494	529	528	382	475	493 ± 61.3
ALA	2357	1697	2523	1834	1733	1720	1977 ± 365
VAL	224	178	170	172	113	155	169 ± 36.1
MET	45.7	34.7	45.3	52.1	41.6	42.1	43.6 ± 5.7
ILE	104	86.9	104	88.4	118	81.4	97.1 ± 13.8
LEU	228	193	212	203	145	181	194 ± 28.9
TYR	90.0	75.9	84.0	111	72.2	91.2	87.4 ± 13.9
PHE	80.1	76.9	104	95.2	62.9	88.4	84.6 ± 14.6
B-ALA	15.9	10.7	13.8	15.9	9.3	9.9	12.6 ± 3.0
GABA	17.2	16.0	14.9	13.5	11.2	12.0	14.1 ± 2.3
TRP	68.1	53.6	50.6	63.9	42.4	44.5	53.8 ± 10.3
EA	177	65.3	115	95.8	47.4	72.5	95.4 ± 46.3
LYS	884	586	766	664	583	652	689 ± 116
HIS	265	197	210	191	148	161	195 ± 41.1
ANSER	41.8	39.7	36.2	52.1	25.4	22.2	36.2 ± 11.0
CAR	66.3	68.8	95.7	91.1	73.4	59.3	75.8 ± 14.5

Konzentrationen in nmol/g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Kochsalzlösung injizierten Ratten  
n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 6a</b>	<b>Herzspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
ARG	488	491	347	335	270	385	447 ± 129
CIT	196	278	205	178	120	162	190 ± 52.7
ORN	161	178	197	156	128	147	181 ± 32.9
ASP	359	317	351	225	264	296	302 ± 51.3
GLU	7542	6889	5359	5814	4282	4997	5814 ± 1214
NH <sub>3</sub>	399	449	356	310	253	350	353 ± 68.1
Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

<b>Tab. 6b</b>	<b>Herzspiegel von Taurin in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
Taurin	25918	28768	21734	23103	21228	20079	23471 ± 3278
Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

<b>Tab. 6c</b>	<b>Herzspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.03	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW ± SA 1-6
PSER	54.9	87.4	34.7	62.6	46.5	49.1	55.9 ± 18.0
PEA	315	453	321	378	277	334	346 ± 61.6
GSH	3451	7348	1886	4190	2114	3760	3791 ± 1968
THR	382	470	330	312	207	258	326 ± 92.5
SER	740	1088	692	629	607	507	710 ± 201
ASN	726	949	540	543	335	427	587 ± 221
GLN	9593	12881	7368	12701	6641	7914	9516 ± 2717
AAA	21.4	36.8	18.4	41.0	23.9	54.3	32.6 ± 13.9
GSSG	101	195	60.5	217	88.4	164	138 ± 63.2
GLY	664	781	516	626	416	614	603 ± 125
ALA	2689	2534	1890	1881	1901	1683	2097 ± 410
VAL	172	197	115	122	168	115	148 ± 35.4
MET	51.9	71.0	46.9	54.2	45.7	45.2	52.5 ± 9.8
ILE	92.2	94.3	98.2	64.6	71.8	66.6	81.3 ± 15.2
LEU	159	145	121	170	101	171	144 ± 28.0
TYR	95.0	101	56.8	75.2	55.4	94.1	79.7 ± 20.2
PHE	87.2	110	20.6	63.7	66.8	156	84.0 ± 45.9
B-ALA	11.5	15.9	10.9	11.0	13.2	13.0	14.3 ± 3.4
GABA	16.6	15.9	17.7	17.6	17.2	20.8	19.9 ± 3.6
TRP	56.2	49.5	20.0	36.7	38.9	54.0	48.4 ± 17.4
EA	112	99.1	85.0	94.9	111	88.3	110 ± 13.4
LYS	702	1099	635	765	530	735.6	853 ± 304
HIS	202	346	209	193	166	195	249 ± 94.3
ANSER	30.2	68.7	42.9	42.5	41.8	30.0	48.6 ± 19.8
CAR	79.8	159	90.7	105	88.4	104	104 ± 28.2

Konzentrationen in nmol/g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten  
n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 7a</b>	<b>Pancreasspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Kontrollgruppe</b>						
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW ± SA 1-6
ARG	327	148	224	284	252	220	243 ± 61.1
CIT	354	431	591	551	392	684	500 ± 128
ORN	593	353	489	354	579	570	490 ± 112
ASP	941	627	492	588	648	668	661 ± 151
GLU	3958	6046	5209	5342	6192	4978	5288 ± 808
NH <sub>3</sub>	315	311	366	311	421	326	342 ± 44.2
Konzentrationen in nmol/g mit Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Kochsalzlösung injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

<b>Tab. 7b</b>	<b>Pancreasspiegel von Taurin in Ratten der Kontrollgruppe</b>						
Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW ± SA 1-6
Taurin	1642	1664	1787	2007	2033	1817	1825 ± 166
Konzentrationen in nmol/g mit Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Kochsalzlösung injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

Tab. 7c	Pankreasspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Kontrollgruppe						
	Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW ± SA 1-6
PSER	27.9	29.8	38.0	27.0	46.9	29.8	33.2 ± 7.7
PEA	2493	2380	2645	2675	2561	2607	2560 ± 109
THR	618	593	518	505	636	1086	659 ± 216
SER	694	431	640	585	875	1092	720 ± 233
ASN	459	391	450	355	495	435	431 ± 50.2
GLN	1993	1750	2572	1735	1888	2731	2112 ± 432
AAA	52.7	34.8	23.4	33.2	39.8	41.5	33.2 ± 15.9
GLY	3428	3686	3738	4085	3566	5416	4018 ± 722
ALA	3876	1911	1444	2040	2142	1543	1825 ± 276
A-ABA	47.5	34.6	35.9	45.1	46.9	47.9	43.0 ± 6.1
VAL	199	175	270	131	219	175	195 ± 47.1
MET	135	135	145	116	198	142	145 ± 27.8
CYST	63.3	13.8	27.0	17.8	17.8	46.1	31.0 ± 19.7
ILE	87.3	62.4	69.0	70.1	94.3	76.9	76.7 ± 12.1
LEU	302	184	273	212	303	234	251 ± 49.0
TYR	261	125	108	191	278	197	193 ± 68.8
PHE	208	76.5	173	86.3	169	104	136 ± 54.3
B-ALA	32.2	34.0	42.5	31.7	49.8	32.2	37.1 ± 7.4
GABA	83.5	81.3	142	47.9	198	74.6	104 ± 55.2
TRP	132	150	190	100	144	95.1	135 ± 35.2
EA	249	154	184	151	350	133	203 ± 82.7
LYS	1174	871	776	970	969	1327	1015 ± 202
HIS	299	184	242	193	317	268	250 ± 54.7
1-Met HIS	39.3	22.4	34.5	25.7	45.5	35.2	33.8 ± 8.5
3-Met HIS	27.1	19.8	26.6	25.5	30.1	31.4	26.8 ± 4.1

Konzentrationen in nmol/g mit Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Kochsalzlösung injizierten Ratten  
MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 8a</b>	<b>Pancreasspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
ARG	311	283	277	343	392	239	307 ± 54.0
CIT	395	272	415	270	321	482	359 ± 85.4
ORN	592	356	311	648	374	424	451 ± 137
ASP	289	401	279	391	292	367	337 ± 56.0
GLU	6599	6586	6002	5397	5824	5890	6050 ± 468
NH <sub>3</sub>	306	426	303	377	427	295	355 ± 62.3
Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

<b>Tab. 8b</b>	<b>Pancreasspiegel von Taurin in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
Taurin	1512	1403	1149	1630	1231	1360	1380 ± 177
Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							



<b>Tab. 8c</b>	<b>Pancreasspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
PSER	38.0	29.9	30.5	38.9	29.4	50.1	36.1 ± 8.0
PEA	3260	2202	2354	2182	2292	2451	2457 ± 409
THR	449	492	717	640	554	704	593 ± 112
SER	882	700	493	1033	556	613	713 ± 207
ASN	359	373	346	371	429	341	370 ± 31.8
GLN	1747	1471	2305	1574	2012	2642	1958 ± 452
AAA	71.8	22.6	34.6	30.4	37.8	44.9	40.4 ± 17.1
GSSG	98.5	105	142	122	160	172	133 ± 29.8
GLY	4712	3055	3457	3442	3725	3389	3629 ± 572
ALA	1278	1310	1327	1020	1049	1292	1211 ± 138
A-ABA	38.3	50.9	46.3	23.6	39.0	55.8	42.3 ± 11.4
VAL	287	272	247	353	392	272	304 ± 56.0
CYS	249	306	221	215	145	193	222 ± 53.8
MET	135	140	121	151	240	139	154 ± 43.1
CYST	39.4	45.3	32.8	35.1	24.5	40.8	36.3 ± 7.3
ILE	129	128	119	141	153	127	133 ± 12.3
LEU	285	341	268	404	403	302	334 ± 58.9
TYR	228	137	120	219	264	234	200 ± 57.8
PHE	133	141	109	200	192	102	146 ± 41.2
B-ALA	36.6	30.7	27.4	27.1	50.3	42.9	35.8 ± 9.3
GABA	110	110	70.5	108	98.2	118	103 ± 16.9
TRP	142	80.0	66.7	94.5	186	134	117 ± 44.8
EA	224	250	139	210	208	168	200 ± 39.9
LYS	862	815	792	794	1153	685	850 ± 159
HIS	326	296	314	343	383	283	324 ± 35.8
1-MET HIS	22.3	42.1	32.5	22.3	34.8	33.6	31.3 ± 7.7
3-MET HIS	30.8	36.4	28.8	19.9	32.2	33.7	30.3 ± 5.7

Konzentrationen in nmol/g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten  
n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 9a</b>	<b>Bronchialspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Kontrollgruppe</b>							
Z.d.D	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW ± SA 1-7
ARG	712	1075	602	517	569	1114	730	760 ± 241
CIT	160	74.1	92.4	161	60.2	175	72.1	117 ± 53.6
ORN	156	225	471	199	205	611	162	290 ± 178
ASP	317	650	777	272	699	1309	659	626 ± 357
GLU	1712	2990	2610	1744	1613	2639	3206	2359 ± 660
NH <sub>3</sub>	259	196	259	401	209	267	222	259 ± 68.4
Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Kochsalzlösung injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation								

<b>Tab. 9b</b>	<b>Bronchialspiegel von Taurin in Ratten der Kontrollgruppe</b>							
Z.d.D	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW ± SA 1-7
Taurin	5325	6056	6734	7835	5778	8127	9694	7078 ± 1551
Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Kochsalzlösung injizierten Ratten n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation								

Tab. 9c	Bronchialspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Kontrollgruppe							
	Z.d.D.	10.32	11.45	11.46	12.45	12.45	13.01	13.30
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	Ratte 7	MW± SA 1-7
PSER	174	394	163	108	112	272	106	190 ± 107
PEA	360	994	750	462	550	821	1030	710 ± 260
THR	580	1067	806	788	479	1122	680	789 ± 238
SER	844	1467	1351	1108	735	1965	990	1209 ± 423
ASN	502	762	510	598	346	786	541	578 ± 154
GLN	4932	4333	2495	4615	3834	3691	3273	3882 ± 834
GLY	1179	3056	2569	1742	1579	3178	3517	2403 ± 905
ALA	2116	3088	2220	3176	1383	2322	1766	2296 ± 653
VAL	238	716	379	418	322	711	256	434 ± 201
MET	217	334	164	142	149	286	173	209 ± 74.2
CYST	18.6	88.9	31.9	32.0	94.2	12.4	72.1	50.0 ± 34.2
ILE	271	426	228	278	211	411	283	301 ± 84.5
LEU	487	981	472	533	441	800	566	611 ± 202
TYR	146	450	251	213	233	420	276	284 ± 111
PHE	294	465	282	238	225	463	276	300 ± 120
B-ALA	25.5	44.7	34.7	73.4	25.5	42.1	31.5	39.6 ± 16.6
GABA	27.4	38.2	18.8	36.1	23.1	39.5	29.2	30.3 ± 7.9
TRP	76.6	158	74.2	91.7	78.1	124	135	105 ± 33.5
EA	298	272	286	148	324	724	406	351 ± 181
LYS	606	1280	722	747	638	1359	909	902 ± 303
HIS	211	318	308	315	188	485	267	299 ± 96.9

Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sieben mit Kochsalzlösung injizierten Ratten  
n.b. = nicht bestimmbar ; MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 10a</b>	<b>Bronchialspiegel bestimmter Aminosäuren in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
ARG	482	732	626	344	785	543	585 ± 163
CIT	54.8	61.0	97.7	45.2	122	77.0	76.4 ± 29.2
ORN	214	145	383	193	150	249	222 ± 87.9
ASP	409	549	482	257	547	397	440 ± 111
GLU	2265	2523	2624	2476	3189	2357	2572 ± 327
NH <sub>3</sub>	422	203	174	141	192	290	237 ± 103
Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

<b>Tab. 10b</b>	<b>Bronchialspiegel von Taurin in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
Taurin	6423	5051	5188	3178	5103	4336	4880±1072
Konzentrationen in nmol\g als Mittelwert und Standardabweichung von sechs mit Ethanol injizierten Ratten MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ; Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation							

<b>Tab. 10c</b>	<b>Bronchialspiegel von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten der Ethanolgruppe</b>						
Z.d.D.	10.23	10.25	11.07	11.44	12.26	12.28	
Amino- verbin- dung	Ratte 1	Ratte 2	Ratte 3	Ratte 4	Ratte 5	Ratte 6	MW± SA 1-6
PSER	384	246	207	157	283	395	279 ± 95.5
PEA	693	1030	785	728	1033	995	877 ± 159
THR	637	808	618	418	714	683	646 ± 130
SER	1015	1099	993	566	1251	937	977 ± 229
ASN	462	583	529	250	723	418	494 ± 160
GLN	2484	3405	3029	2567	3969	3003	3076 ± 552
GLY	2011	2181	2116	2137	2169	2376	2165 ± 120
ALA	1814	2254	1976	1110	1986	2197	1890 ± 414
VAL	257	453	316	245	369	368	335 ± 78.3
MET	115	228	176	107	206	186	170 ± 48.8
CYST	23.0	43.6	37.0	30.1	31.2	44.0	34.8 ± 8.3
ILE	168	241	221	113	258	190	199 ± 53.3
LEU	382	613	493	279	557	478	467 ± 120
TYR	229	331	248	147	313	296	261 ± 67.9
PHE	241	353	262	147	307	251	260 ± 69.3
BALA	32.7	35.2	35.9	18.3	37.5	36.3	32.6 ± 7.2
GABA	13.9	25.6	18.3	10.8	10.9	14.9	15.7 ± 5.6
TRP	65.8	132	144	58.3	177	93.1	112 ± 47.0
EA	252	207	223	127	249	224	214 ± 45.9
LYS	643	727	698	370	759	605	634 ± 141
HIS	205	246	211	152	252	190	209 ± 36.9

Konzentrationen in nmol/g mit Mittelwert und Standardabweichung von  
sechs mit Ethanol injizierten Ratten  
MW = Mittelwert ; SA = Standardabweichung ;  
Z.d.D. = Zeitpunkt der Dekapitation

<b>Tab. 11a</b>	<b>Vergleich von bestimmten Aminosäuren im Plasma und in der Aorta von Kontroll- und Ethanol- behandelten Ratten</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Plasma (n=8)</b>	<b>Ethanolgruppe Plasma (n=7)</b>	<b>Kontrollgruppe Aorta (n=7)</b>	<b>Ethanolgruppe Aorta (n=6)</b>
ARG	122 ± 34.1	83.1 ± 16.2 *	198 ± 52.9	179 ± 49.7
CIT	41.0 ± 8.5	41.0 ± 6.7	53.5 ± 18.2	61.6 ± 10.9
ORN	35.2 ± 17.5	33.0 ± 17.1	94.5 ± 44.6	61.1 ± 8.2 °°
ASP	11.8 ± 2.7	8.4 ± 1.9 *	286 ± 134	196 ± 47.1 °°
GLU	76.8 ± 24.2	59.0 ± 12.6 °°	1364 ± 129	1533 ± 464
NH <sub>3</sub>	9.7 ± 2.7	10.5 ± 3.1	160 ± 40.1	102 ± 21.6 *
Konzentrationen in nmol\ml oder g ;      * = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1				

<b>Tab. 11b</b>	<b>Vergleich von Taurin im Plasma und in der Aorta von Kontroll- und Ethanol- behandelten Ratten</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Plasma (n=8)</b>	<b>Ethanolgruppe Plasma (n=7)</b>	<b>Kontrollgruppe Aorta (n=7)</b>	<b>Ethanolgruppe Aorta (n=6)</b>
Taurin	182 ± 39.3	147 ± 35.3 °°	4164 ± 999	3062 ± 808 *
Konzentrationen in nmol\ml oder g ;      * = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1				

<b>Tab. 11c</b>	<b>Vergleich von Aminosäuren und verwandten Verbindungen im Plasma und in der Aorta von Kontroll- und Ethanol-behandelten Ratten</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Plasma (n=8)</b>	<b>Ethanolgruppe Plasma (n=7)</b>	<b>Kontrollgruppe Aorta (n=7)</b>	<b>Ethanolgruppe Aorta (n=6)</b>
PSER	6.2 ± 4.4	3.2 ± 0.9 °°	19.2 ± 8.8	27.7 ± 9.2*
PEA	9.4 ± 3.3	7.0 ± 1.5 °°	422 ± 63.3	400 ± 122
GSH	n.b.	n.b.	1089 ± 329	604 ± 271 °°
THR	110 ± 19.3	100 ± 8.3	321 ± 42.2	329 ± 56.0
SER	96.9 ± 16.4	80.0 ± 14.5 *	383 ± 124	349 ± 100
ASN	55.2 ± 13.5	49.0 ± 10.5	187 ± 28.7	176 ± 42.3
GLN	510 ± 63.0	521 ± 85.1	995 ± 176	1119 ± 293
AAA	10.7 ± 4.2	7.3 ± 1.6 °°	11.2 ± 6.1	12.7 ± 5.3
GLY	175 ± 42.2	140 ± 21.6 *	807 ± 145	1040 ± 332
ALA	180 ± 36.0	134 ± 19.2 *	1010 ± 224	1113 ± 184
A-ABA	5.2 ± 1.5	5.9 ± 3.2	5.9 ± 1.8	4.8 ± 0.8
VAL	75.8 ± 29.2	80.5 ± 14.3	164 ± 31.5	157 ± 55.2
CYS	17.8 ± 3.8	20.4 ± 3.3	n.b.	n.b.
MET	25.6 ± 6.6	24.2 ± 6.5	58.6 ± 19.3	62.5 ± 29.4
CYST	3.2 ± 1.1	2.7 ± 1.3	n.b.	n.b.
ILE	43.7 ± 8.8	38.7 ± 10.3	97.4 ± 20.7	91.1 ± 42.0
LEU	76.1 ± 10.6	61.6 ± 16.1 °°	176 ± 36.5	154 ± 87.2
TYR	37.2 ± 8.8	32.2 ± 6.3	102 ± 13.9	90.5 ± 29.3
PHE	33.7 ± 6.6	25.0 ± 3.1 *	89.6 ± 25.0	80.6 ± 32.3
B-ALA	3.4 ± 0.8	2.5 ± 1.1 *	13.9 ± 3.1	15.9 ± 2.4
GAB	n.b.	n.b.	13.5 ± 4.8	14.4 ± 8.3
TRP	91.0 ± 19.9	72.8 ± 17.3 °°	58.2 ± 17.0	46.8 ± 16.0
EA	10.9 ± 1.9	10.8 ± 4.1	242 ± 112	244 ± 207
LYS	223 ± 75.5	164 ± 74.2 °°	275 ± 45.8	302 ± 77.1
HIS	42.3 ± 14.2	33.9 ± 9.0	96.3 ± 36.3	92.0 ± 19.9
1-MET HIS	4.2 ± 1.0	3.2 ± 0.8	4.3 ± 1.5	4.8 ± 1.0
3-MET HIS	4.5 ± 1.7	3.8 ± 1.3	5.1 ± 3.1	3.7 ± 1.2
ANSER	5.1 ± 1.6	4.1 ± 2.0	n.b.	n.b.
CAR	6.9 ± 2.2	5.6 ± 1.8	n.b.	n.b.

Konzentrationen in nmol/ml oder g ; n.b. = nicht bestimmbar  
 \* = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1

<b>Tab. 11d</b>	<b>Vergleich von bestimmten Aminosäuren im Herz, im Pancreas und im Bronchus von Kontroll- und Ethanol-behandelten Ratten</b>					
Amino- verbin- dung	<b>Kontroll- gruppe Herz (n=6)</b>	<b>Ethanol- gruppe Herz (n=6)</b>	<b>Kontroll- gruppe Pancreas (n=6)</b>	<b>Ethanol- gruppe Pancreas (n=6)</b>	<b>Kontroll- gruppe Bronchus (n=7)</b>	<b>Ethanol- gruppe Bronchus (n=6)</b>
ARG	390 ± 118	447 ± 129	243 ± 61.1	307 ± 54.0	760 ± 241	585 ± 163
CIT	168 ± 35.4	190 ± 52.7	500 ± 128	359 ± 85.4 *	117 ± 53.6	76.4 ± 29.2
ORN	132 ± 47.6	181 ± 32.9 *	490 ± 112	451 ± 137	290 ± 178	222 ± 87.9
ASP	598 ± 129	302 ± 51.3 *	661 ± 151	337 ± 56.0 *	626 ± 357	440 ± 111
GLU	4546 ± 742	5814±1214 *	5288 ± 808	6050 ± 468	2359 ± 660	2572 ± 327
NH <sub>3</sub>	374 ± 79.8	353 ± 68.1	342 ± 44.2	355 ± 62.3	259 ± 68.4	237 ± 103
Konzentrationen in nmol/ml oder g ;      * = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1						

<b>Tab. 11e</b>	<b>Vergleich von Taurin im Herz, im Pancreas und im Bronchus von Kontroll- und Ethanol-behandelten Ratten</b>					
Amino- verbin- dung	<b>Kontroll- gruppe Herz n=6</b>	<b>Ethanol- gruppe Herz n=6</b>	<b>Kontroll- gruppe Pancreas n=6</b>	<b>Ethanol- gruppe Pancreas n=6</b>	<b>Kontroll- gruppe Bronchus n=7</b>	<b>Ethanol- gruppe Bronchus n=6</b>
Taurin	21657±5102	23471±3278	1825±166	1380±177 *	7078±1551	4880±1072 *
Konzentrationen in nmol/ml oder g ;      * = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1						



<b>Tab. 12a</b>	<b>Vergleich des Gewebe/Plasma-Verhältnisses von best. Aminosäuren für Aorta und Herz zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	Kontrollgruppe Aorta/Plasma	Ethanolgruppe Aorta/Plasma	Kontrollgruppe Herz/Plasma	Ethanolgruppe Herz/Plasma
ARG	3.14	2.06	3.59	4.85
CIT	1.34	1.55	4.25	4.75
ORN	3.25	2.73	3.79	5.97
ASP	26.78	25.38	48.15	36.64 °°
GLU	20.11	26.25	63.16	104.36 *
NH <sub>3</sub>	19.70	11.30 °°	45.97	35.41
* = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1				

<b>Tab. 12b</b>	<b>Vergleich des Gewebe/Plasma-Verhältnisses von Taurin für Aorta und Herz zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	Kontrollgruppe Aorta/Plasma	Ethanolgruppe Aorta/Plasma	Kontrollgruppe Herz/Plasma	Ethanolgruppe Herz/Plasma
Taurin	29.17	20.44	131.43	172.55
* = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1				

<b>Tab. 12c</b>	<b>Vergleich des Gewebe/Plasma-Verhältnisses von Aminosäuren und verwandten Verbindungen für Aorta und Herz zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	Kontrollgruppe Aorta/Plasma	Ethanolgruppe Aorta/Plasma	Kontrollgruppe Herz/Plasma	Ethanolgruppe Herz/Plasma
PSER	5.74	9.77	10.44	18.64 *
PEA	52.21	54.19	33.65	52.55 °°
THR	3.06	3.36	2.53	3.20
SER	4.22	4.69	5.31	8.58 *
ASN	3.70	3.63	9.47	11.99
GLN	2.06	2.14	17.15	17.76
AAA	1.10	1.76 *	2.52	4.65 *
GLY	4.96	7.73 *	2.90	4.26 *
ALA	6.65	8.36	11.78	15.62 °°
A-ABA	1.27	0.92	n.b.	n.b.
VAL	2.54	1.93	2.64	1.92
MET	2.59	2.64	1.82	2.09
ILE	2.33	2.32	2.26	2.20
LEU	2.56	2.80	2.62	2.36
TYR	2.73	2.89	2.55	2.55
PHE	2.80	3.33	2.69	3.35
B-ALA	4.24	7.39 *	4.12	5.12
TRP	0.66	0.68	0.65	0.57
EA	20.66	30.56	7.84	9.15
LYS	1.49	1.92	2.99	4.71 °°
HIS	2.59	3.02	4.39	6.49
1-MET HIS	1.17	1.50	n.b.	n.b.
3-MET HIS	1.46	1.14	n.b.	n.b.
ANSER	n.b.	n.b.	7.30	13.29 *
CAR	n.b.	n.b.	11.84	18.54 *

\* = p &lt; 0.05

°° = 0.05 &lt; p &lt; 0.1;

n.b. = nicht bestimmbar

<b>Tab. 12d</b>	<b>Vergleich des Gewebe/Plasma-Verhältnisses von bestimmten Aminosäuren für Pancreas und Bronchus zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Kontrollgruppe Bronc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Bronc/Plasma</b>
ARG	2.16	3.77 *	6.58	7.11
CIT	12.31	9.13 *	2.85	1.99
ORN	16.60	14.20	8.48	8.63
ASP	54.28	41.40	53.84	53.23
GLU	75.10	107.82 *	30.61	44.85 *
NH <sub>3</sub>	40.84	35.38	29.66	21.82
* = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1				

<b>Tab. 12e</b>	<b>Vergleich des Gewebe/Plasma-Verhältnisses von Taurin für Pancreas und Bronchus zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Kontrollgruppe Bronc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Bronc/Plasma</b>
Taurin	11.52	9.97	42.34	35.70
* = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1				

<b>Tab. 12f</b>	<b>Vergleich des Gewebe/Plasma-Verhältnisses von Aminosäuren und verwandten Verbindungen für Pancreas und Bronchus zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Kontrollgruppe Bronc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Bronc/Plasma</b>
PSER	6.55	12.25 *	50.17	95.11 °°
PEA	301.08	376.13	74.37	129.46 *
THR	5.91	5.88	7.04	6.46
SER	7.44	8.61	12.32	11.96
ASN	8.30	7.93	10.59	10.41
GLN	4.38	3.75	7.84	5.79 *
AAA	3.36	6.01°°	n.b.	n.b.
GLY	23.51	25.78	13.03	15.45
ALA	10.87	8.91 *	13.22	13.90
A-ABA	8.66	8.88	n.b.	n.b.
VAL	2.93	3.97	5.74	4.31
MET	6.14	6.32	8.11	6.72
CYST	9.29	15.70 °°	14.23	13.92
ILE	1.80	3.64 *	6.63	5.48
LEU	3.36	5.64 *	7.88	8.04
TYR	5.38	6.34	7.66	8.66
PHE	4.19	5.97 °°	9.55	10.89
B-ALA	12.07	14.47	n.b.	n.b.
TRP	1.62	1.62	1.17	1.73
EA	15.98	18.91	27.72	19.65
LYS	4.49	5.27	3.97	4.12
HIS	5.93	9.32 *	7.39	6.16
1-Met HIS	8.28	10.44	n.b.	n.b.
3-Met HIS	5.34	9.53 *	n.b.	n.b.

\*=p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1;      n.b. = nicht bestimmbar

<b>Tab. 13a</b>	<b>Vergleich der Gewebe/Plasma-Korrelation von bestimmten Aminosäuren für Aorta und Herz zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Aorta/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Aorta/Plasma</b>	<b>Kontrollgruppe Herz/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Herz/Plasma</b>
ARG	0.38	-0.77	-0.05	-0.21
CIT	-0.25	-0.09	-0.06	0.38
ORN	0.34	-0.58	0.47	-0.69
ASP	0.91 *	-0.64	0.42	0.44
GLU	0.15	0.25	-0.25	-0.40
NH <sub>3</sub>	-0.36	0.65	-0.91 *	-0.42
* = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1				

<b>Tab. 13b</b>	<b>Vergleich der Gewebe/Plasma-Korrelation von Taurin für Aorta und Herz zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Aorta/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Aorta/Plasma</b>	<b>Kontrollgruppe Herz/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Herz/Plasma</b>
Taurin	0.41	0.36	0.48	-0.81 *
* = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1				

<b>Tab. 13c</b>	<b>Vergleich der Gewebe/Plasma-Korrelation von Aminosäuren und verwandten Verbindungen für Aorta und Herz zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Aorta/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Aorta/Plasma</b>	<b>Kontrollgruppe Herz/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Herz/Plasma</b>
PSER	-0.61	-0.67	0.46	0.56
PEA	-0.28	0.38	-0.48	-0.35
THR	0.20	-0.64	-0.43	0.59
SER	0.20	0.17	-0.24	0.45
ASN	0.34	-0.64	0.41	0.86 *
GLN	0.61	-0.11	0.07	0.53
AAA	0.70	-0.58	0.01	0.34
GLY	0.33	0.47	-0.49	0.38
ALA	0.29	-0.58	0.19	-0.20
A-ABA	-0.62	0.50	n.b.	n.b.
VAL	-0.29	-0.53	-0.45	-0.19
MET	0.32	-0.51	0.54	0.86 *
ILE	0.20	-0.11	0.93 *	0.23
LEU	0.15	-0.23	-0.13	0.68
TYR	0.45	0.59	0.27	0.58
PHE	0.71	0.45	-0.33	0.41
B-ALA	0.64	0.14	-0.35	-0.35
TRP	0.83 *	0.37	-0.47	0.74
EA	-0.40	0.14	-0.32	0.44
LYS	0.67	0.01	0.21	-0.14
HIS	0.83 *	0.02	0.70	-0.39
1-MET HIS	0.03	0.46	n.b.	n.b.
3-MET HIS	0.01	-0.04	n.b.	n.b.
ANSER	n.b.	n.b.	0.65	0.33
CAR	n.b.	n.b.	0.37	0.63

Zahlen geben r-Werte an      \*=p < 0.05      n.b.= nicht bestimmbar

<b>Tab. 13d</b>	<b>Vergleich der Gewebe/Plasma-Korrelation von bestimmten Aminosäuren für Pancreas und Bronchus zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Kontrollgruppe Bronc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Bronc/Plasma</b>
ARG	0.65	0.30	0.28	0.36
CIT	0.42	0.09	-0.13	-0.20
ORN	-0.12	-0.62	-0.33	-0.28
ASP	-0.02	-0.09	0.38	0.28
GLU	0.18	-0.74	0.57	0.47
NH <sub>3</sub>	0.03	-0.28	-0.48	0.65
Zahlen geben r-Werte an * =p < 0.05;				

<b>Tab. 13e</b>	<b>Vergleich der Gewebe/Plasma-Korrelation von Taurin für Pancreas und Bronchus zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	<b>Kontrollgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Panc/Plasma</b>	<b>Kontrollgruppe Bronc/Plasma</b>	<b>Ethanolgruppe Bronc/Plasma</b>
Taurin	0.47	-0.22	0.59	-0.42
Zahlen geben r-Werte an * =p < 0.05;				

<b>Tab. 13f</b>	<b>Vergleich der Gewebe/Plasma-Korrelation von Aminosäuren und verwandten Verbindungen für Pancreas und Bronchus zwischen Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Amino- verbin- dung	Kontrollgruppe Panc/Plasma	Ethanolgruppe Panc/Plasma	Kontrollgruppe Bronc/Plasma	Ethanolgruppe Bronc/Plasma
PSER	-0.25	0.41	-0.43	0.28
PEA	0.50	-0.48	0.81 *	0.54
THR	-0.81 *	-0.03	0.18	-0.59
SER	-0.25	0.41	0.02	0.12
ASN	0.04	0.13	0.21	0.36
GLN	0.14	-0.43	0.67	0.36
AAA	0.23	-0.29	n.b.	n.b.
GLY	-0.56	0.35	0.65	0.34
ALA	0.70	0.75	0.41	0.40
A-ABA	-0.40	0.19	n.b.	n.b.
VAL	0.40	-0.42	0.73	-0.01
MET	0.54	-0.19	0.77 *	0.58
CYST	-0.17	-0.31	-0.42	0.52
ILE	0.53	-0.26	0.79 *	0.01
LEU	0.60	0.23	0.68	-0.14
TYR	0.85 *	0.66	0.59	-0.18
PHE	0.61	0.10	0.60	-0.76
B-ALA	0.28	-0.13	-0.08	-0.78
TRP	0.12	0.27	0.74 *	-0.71
EA	-0.29	0.05	-0.15	0.44
LYS	-0.49	0.43	0.06	-0.48
HIS	-0.19	0.66	-0.26	-0.40
1-MET HIS	-0.59	-0.39	n.b.	n.b.
3-MET HIS	-0.06	-0.43	n.b.	n.b.
Zahlen geben r-Werte an      *=p < 0.05      n.b.= nicht bestimmbar				



<b>Tab. 14a</b>	<b>Verhältnisse bestimmter Verbindungskonzentrationen für Plasma, Aorta und Herz in Kontroll- und Ethanolgruppen</b>					
Quotienten v. Aminoverbindungen	<b>Kontroll-Plasma (n=8)</b>	<b>Ethanol-Plasma (n=7)</b>	<b>Kontroll-Aorta (n=7)</b>	<b>Ethanol-Aorta (n=6)</b>	<b>Kontroll-Herz (n=6)</b>	<b>Ethanol-Herz (n=6)</b>
ARG/CIT	2.91	2.11 °°	4.17	3.13	2.46	2.38
ARG/ORN	4.11	3.36	2.48	3.03	3.06	2.45
ARG/ASP	10.18	10.26	0.75	0.95	0.68	1.50 *
ARG/GLU	1.58	1.44	0.15	0.12	0.09	0.08
ARG/NH <sub>3</sub>	13.60	8.02	1.35	1.76 *	1.03	1.25
ARG/TAU	0.75	0.60	0.05	0.07	0.02	0.02
CIT/ORN	1.47	1.72	0.67	1.02 °°	1.46	1.04
CIT/ASP	3.67	5.05 °°	0.21	0.33 *	0.30	0.63 *
CIT/GLU	0.57	0.72	0.04	0.04	0.04	0.03
CIT/NH <sub>3</sub>	4.72	4.21	0.35	0.64 *	0.47	0.53
CIT/TAU	0.27	0.29	0.01	0.02 *	0.01	0.01
ORN/ASP	3.09	4.11	0.36	0.34	0.22	0.61 *
ORN/GLU	0.47	0.58	0.07	0.04	0.03	0.03
ORN/NH <sub>3</sub>	3.93	3.10	0.64	0.64	0.35	0.52 *
ORN/TAU	0.21	0.23	0.02	0.02	0.008	0.006 *
ASP/GLU	0.16	0.15	0.21	0.13 *	0.14	0.05 *
ASP/NH <sub>3</sub>	1.30	0.86 *	1.97	1.95	1.65	0.87 *
ASP/TAU	0.07	0.06	0.07	0.07	0.03	0.01 *
GLU/NH <sub>3</sub>	8.49	6.03 °°	8.96	15.02 *	12.35	16.54 *
GLU/TAU	0.46	0.42	0.35	0.55	0.22	0.25
NH <sub>3</sub> /TAU	0.06	0.07	0.04	0.04	0.02	0.02
* = p < 0.05      °° = 0.05 < p < 0.1						

<b>Tab. 14b</b>	<b>Verhältnisse bestimmter Verbindungskonzentrationen für Pancreas und Bronchus in Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Quotienten v. Aminoverbindungen	<b>Kontroll-Pancreas (n=6)</b>	<b>Ethanol-Pancreas (n=6)</b>	<b>Kontroll-Bronchus (n=7)</b>	<b>Ethanol-Bronchus (n=69)</b>
ARG/CIT	0.52	0.91 *	7.75	8.05
ARG/ORN	0.51	0.73 *	3.19	3.02
ARG/ASP	0.37	0.94 *	1.42	1.32
ARG/GLU	0.05	0.05	0.33	0.23 *
ARG/NH <sub>3</sub>	0.72	0.87	3.13	2.79
ARG/TAU	0.13	0.23 *	0.11	0.12
CIT/ORN	1.08	0.86	0.50	0.38
CIT/ASP	0.81	1.11	0.26	0.17
CIT/GLU	0.10	0.06 *	0.06	0.03
CIT/NH <sub>3</sub>	1.49	1.07	0.44	0.37
CIT/TAU	0.28	0.27	0.02	0.02
ORN/ASP	0.76	1.36 *	0.49	0.54
ORN/GLU	0.10	0.08	0.12	0.09
ORN/NH <sub>3</sub>	1.44	1.31	1.15	1.07
ORN/TAU	0.27	0.32	0.04	0.05
ASP/GLU	0.13	0.06 *	0.26	0.17
ASP/NH <sub>3</sub>	1.97	0.96 *	2.56	2.08
ASP/TAU	0.37	0.24 *	0.09	0.09
GLU/NH <sub>3</sub>	15.57	17.45	9.71	12.53
GLU/TAU	2.90	4.44 *	0.34	0.55 *
NH <sub>3</sub> /TAU	0.19	0.26 *	0.04	0.05

\*=p < 0.05 ;

Tab. 15a	Korrelationen bestimmter Verbindungsverhältnisse für Plasma, Aorta und Herz in Kontroll- und Ethanolgruppen					
	Quotienten v Aminover- bindungen	Kontroll- Plasma (n=8)	Ethanol- Plasma (n=7)	Kontroll- Aorta (n=7)	Ethanol- Aorta (n=6)	Kontroll- Herz (n=6)
ARG/CIT	0.29	-0.27	-0.21	-0.76	-0.35	0.79
ARG/ORN	-0.14	-0.14	0.33	-0.61	0.84 *	0.71
ARG/ASP	0.30	-0.09	0.88 *	0.12	0.02	0.23
ARG/GLU	0.53	0.69	0.04	0.29	0.84 *	0.71
ARG/NH <sub>3</sub>	-0.25	-0.51	-0.65	0.85 *	0.94 *	0.87 *
ARG/TAU	0.25	-0.26	-0.06	-0.87 *	0.78	0.72
CIT/ORN	0.23	-0.48	0.15	0.31	-0.31	0.84 *
CIT/ASP	-0.26	-0.26	0.03	0.26	-0.45	0.46
CIT/GLU	0.23	-0.16	-0.25	-0.12	-0.03	0.72
CIT/NH <sub>3</sub>	-0.44	-0.40	0.33	-0.69	-0.45	0.91 *
CIT/TAU	-0.13	-0.01	-0.06	0.72	-0.21	0.83 *
ORN/ASP	0.06	-0.06	0.31	-0.57	0.39	0.14
ORN/GLU	0.42	0.16	-0.88 *	-0.31	0.79	0.41
ORN/NH <sub>3</sub>	0.01	0.57	-0.24	-0.68	0.74	0.70
ORN/TAU	0.38	0.45	0.18	0.53	0.87 *	0.46
ASP/GLU	0.29	-0.29	-0.10	0.78	-0.15	0.50
ASP/NH <sub>3</sub>	0.32	0.29	-0.38	0.48	-0.07	0.65
ASP/TAU	0.77 *	-0.80 *	0.33	0.26	0.48	0.32
GLU/NH <sub>3</sub>	0.13	-0.14	0.05	0.70	0.69	0.82 *
GLU/TAU	0.73 *	-0.12	-0.43	0.19	0.54	0.85 *
NH <sub>3</sub> /TAU	0.31	0.03	0.38	-0.54	0.70	0.78

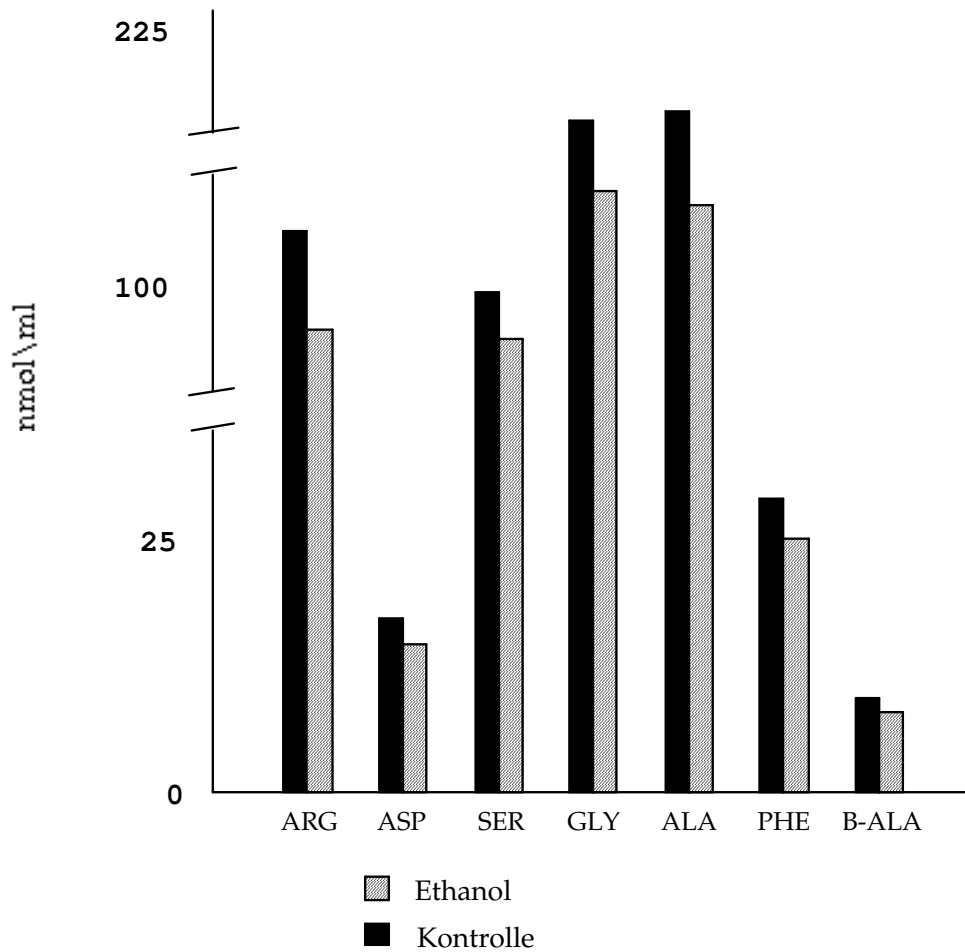
Zahlen geben r-Werte an \* = p < 0.05 ;

<b>Tab. 15b</b>	<b>Korrelationen bestimmter Verbindungsverhältnisse für Pancreas und Bronchus in Kontroll- und Ethanolgruppen</b>			
Quotienten v. Aminoverbindungen	<b>Kontroll-Pancreas (n=6)</b>	<b>Ethanol-Pancreas (n=6)</b>	<b>Kontroll-Bronchus (n=7)</b>	<b>Ethanol-Bronchus (n=6)</b>
ARG/CIT	-0.27	-0.62	0.14	0.74
ARG/ORN	0.44	0.26	0.44	-0.17
ARG/ASP	0.58	-0.26	0.72	0.97 *
ARG/GLU	-0.67	-0.33	0.58	0.68
ARG/NH <sub>3</sub>	0.01	0.63	-0.34	-0.17
ARG/TAU	0.20	0.10	0.08	0.41
CIT/ORN	-0.10	-0.21	0.34	0.19
CIT/ASP	-0.57	-0.42	0.16	0.65
CIT/GLU	-0.03	0.09	-0.34	-0.83 *
CIT/NH <sub>3</sub>	-0.17	-0.86 *	0.69	-0.26
CIT/TAU	0.19	-0.39	0.06	0.22
ORN/ASP	0.51	0.23	0.88 *	-0.10
ORN/GLU	-0.43	-0.23	0.27	-0.23
ORN/NH <sub>3</sub>	0.46	-0.14	0.04	-0.03
ORN/TAU	-0.04	0.91 *	-0.17	0.09
ASP/GLU	-0.66	-0.14	0.61	0.55
ASP/NH <sub>3</sub>	-0.28	0.35	-0.22	-0.03
ASP/TAU	-0.44	0.57	0.39	0.58
GLU/NH <sub>3</sub>	0.48	-0.05	-0.37	-0.52
GLU/TAU	0.49	-0.07	0.56	-0.03
NH <sub>3</sub> /TAU	0.55	0.06	0.24	0.69

Zahlen geben r-Werte an      \*=p < 0.05 ;

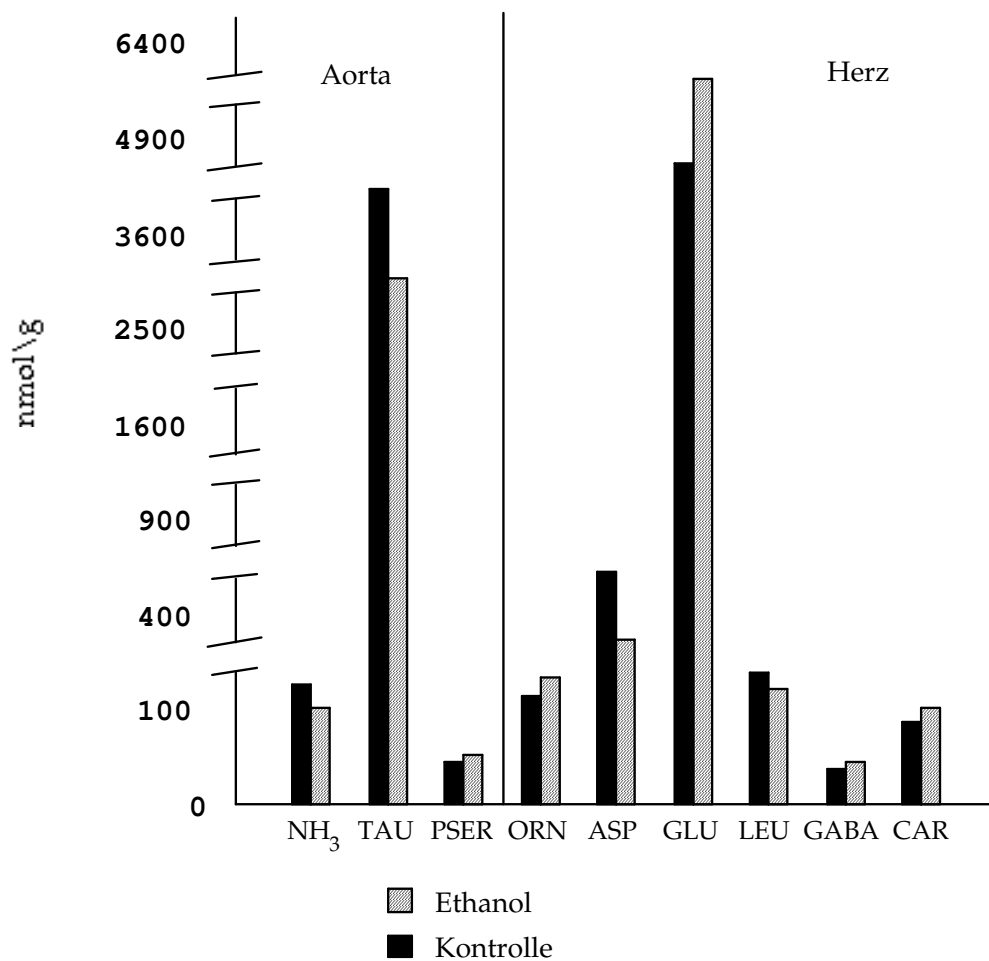
### 3.2. Graphiken

Graph 1 : Verbindungen mit signifikanten Unterschieden im Plasma



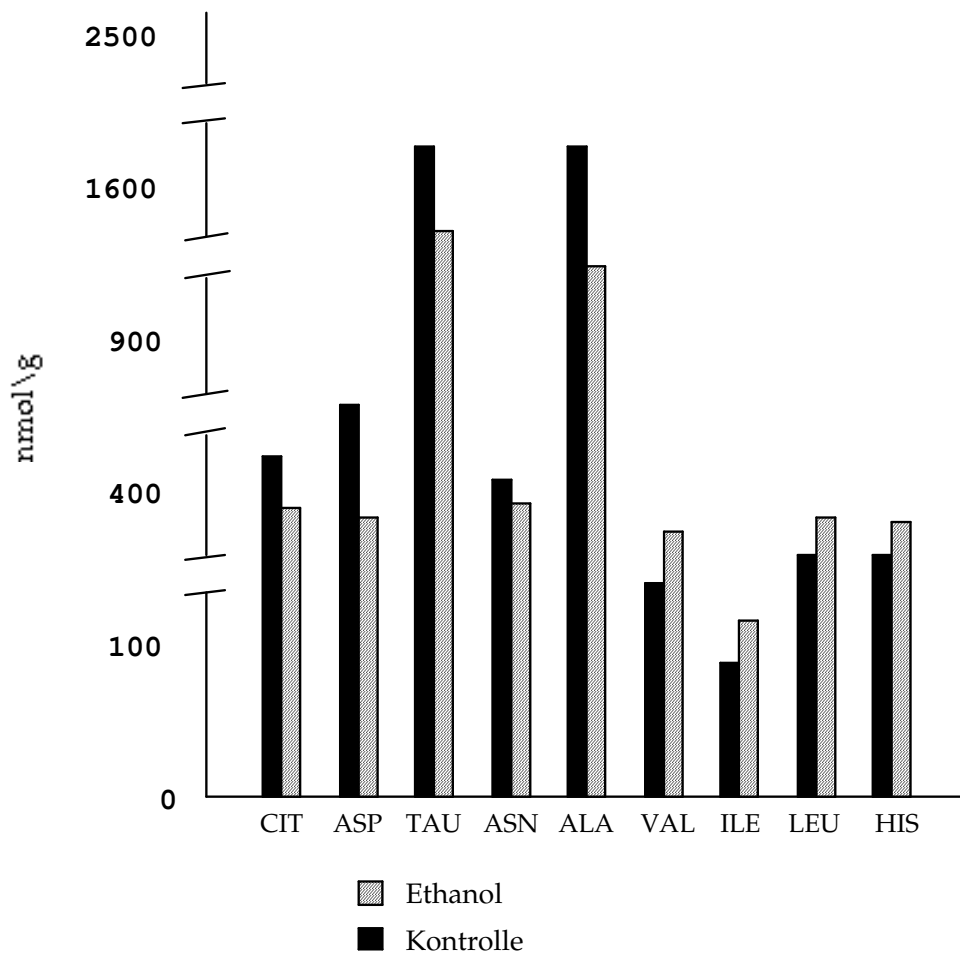
<b>Prozentual verbleibender Anteil der Konzentrationen der signifikant veränderten Aminoverbindungen nach Injektion von Ethanol</b>							
Amino- verbind.	ARG	ASP	SER	GLY	ALA	PHE	B-ALA
Prozent	68.1%	71.2%	82.6%	80.0%	74.4%	74.2%	73.5%

**Graph 2 : Verbindungen mit signifikanten Unterschieden in Aorta + Herz**



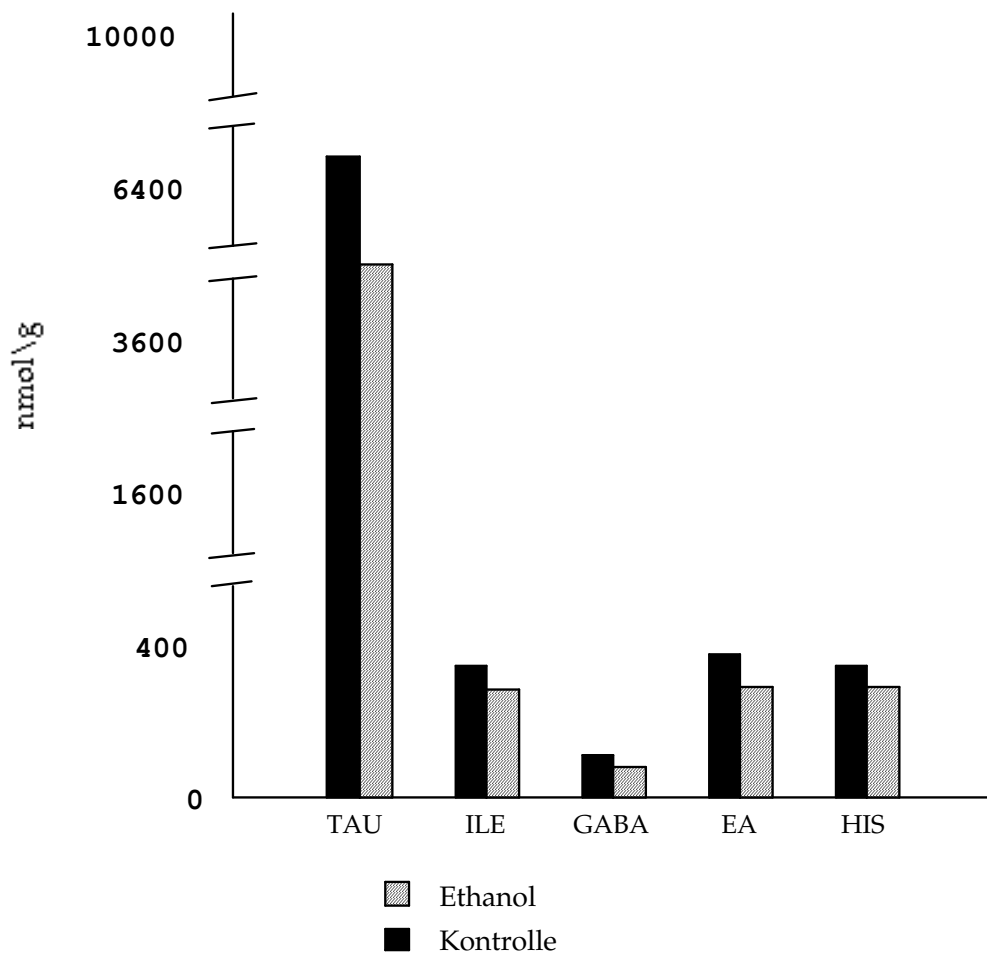
<b>Prozentual verbleibender Anteil der Konzentrationen der signifikant veränderten Aminoverbindungen nach Injektion von Ethanol</b>									
Amino- verbind.	NH <sub>3</sub> (Aorta)	TAU (Aorta)	PSER (Aorta)	ORN (Herz)	ASP (Herz)	GLU (Herz)	LEU (Herz)	GABA (Herz)	CAR (Herz)
Prozent	63.8%	73.5%	144%	137%	50.5%	128%	74.9%	141%	137%

**Graph 3 : Verbindungen mit signifikanten Unterschieden im Pancreas**



<b>Prozentual verbleibender Anteil der Konzentrationen der signifikant veränderten Aminoverbindungen nach Injektion von Ethanol</b>									
Amino- verbind.	CIT	ASP	TAU	ASN	ALA	VAL	ILE	LEU	HIS
Prozent	71.8%	51.0%	75.6%	85.8%	66.4%	156%	173%	133%	130%

**Graph 4 : Verbindungen mit signifikanten Unterschieden im Bronchus**



<b>Prozentual verbleibender Anteil der Konzentrationen der signifikant veränderten Aminoverbindungen nach Injektion von Ethanol</b>					
Amino- verbind.	TAU	ILE	GABA	EA	HIS
Prozent	68.9%	66.1%	51.8%	61.0%	69.9%



### **3.3. Allgemeines**

Die Ergebnisse dieser Studie werden in der Reihenfolge vorgestellt, in der die Gewebe untersucht worden sind, d.h. Plasma, Aorta, Herz, Pancreas und Bronchus.

Von allen untersuchten Verbindungen sind die sieben Folgenden etwas genauer betrachtet worden: Arginin, Citrullin, Ornithin, Aspartat, Glutamat und Ammoniak als Verbindungen, die in Harnstoff- und Citratzyklus vorkommen, sowie Taurin. Die restlichen Aminoverbindungen wurden nur in einer Tabelle zusammengefasst und werden auch nur oberflächlich betrachtet. Die ermittelten Daten für jedes individuelle Versuchstier wurden dargestellt und später auch zur Kalkulation von Verhältnissen und Korrelationen herangezogen.

### **3.4. Darstellung der Konzentrationen von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in den untersuchten Geweben von Ratten der Kontroll- und Ethanolgruppen**

**Plasma** - In den Tabellen 1a, 1b und 1c sind die Konzentrationen der Aminosäuren und verwandten Verbindungen im Plasma von Kontrollratten wiedergegeben.

In Tab. 1a ist Arginin die Verbindung mit der höchsten Konzentration von durchschnittlich 122 nmol/ml und Ammoniak diejenige mit der niedrigsten von 9.7 nmol/ml. Taurin in Tab. 1b hat eine noch höhere Konzentration von 182 nmol/ml im Mittel. In Tab. 1c, der Tabelle mit allen übrigen gemessenen Verbindungen, liegt die Aminosäure Glutamin mit einem Durchschnittswert von 510 nmol/ml sehr viel höher als alle anderen Verbindungen. Nur Threonin, Glycin, Alanin und Lysin kommen mit ihren Konzentrationen in dreistellige Bereiche. Alle übrigen werden, von Cystein als AS mit niedrigstem Mittelwert von 3.2 nmol/ml angeführt, in zweistelligen Konzentrationen angetroffen.

In den Tabellen 2a, 2b und 2c finden sich die Konzentrationen all der oben erwähnten Verbindungen in dem Plasma der Ethanolratten. Arginin ist in Tab. 2a die Verbindung mit der im Durchschnitt höchsten Konzentration von 83.1 nmol/ml. Aspartat hat mit 8.4 nmol/ml im Mittel eine fast 10-fach niedrigere

und in Tab. 2a die niedrigste Konzentration überhaupt. Taurin in Tab. 2b hat eine durchschnittliche Konzentration von 147 nmol/ml und damit in diesen drei Tabellen, 2a, 2b und 2c, den dritthöchsten Wert, der nur in Tab. 2c von Glutamin, 521 nmol/ml, und Lysin, 164 nmol/ml, übertroffen wird. Die Verbindung unter den Ethanolratten mit der niedrigsten Konzentration ist beta-Alanin mit 2.5 nmol/ml. Einige andere Verbindungen, wie z.B. Phosphoserin, Phosphoethanolamin, alpha-Aminoapadicsäure, alpha-Aminobutyricsäure, Cystein, 1- und 3-Methyl-Histidin, Anserin und Carnosin zeigen ebenfalls nur einstellige Konzentrationswerte.

**Aorta** - In der Kontrollaorta, Tab. 3a, 3b und 3c, finden sich grundsätzlich höhere Konzentrationen aller Verbindungen als im Plasma. Glutamat ist in Tab. 3a nun die Verbindung mit der höchsten Konzentration von 1364 nmol/g und Citrullin diejenige mit der niedrigsten von 53.5 nmol/g. Taurin, Tab. 3b, ist mit 4164 nmol/g mehr als 20-fach höher als im Plasma und die konzentrationsstärkste aufgefundene Aminoverbindung in der Aorta überhaupt. Andere Aminoverbindungen, Tab. 3c, mit hohen Konzentrationen, die zwischen 807 nmol/g und 1089 nmol/g liegen, sind reduziertes Glutathion, Glutamin, Glycin und Alanin. Die niedrigste Konzentration, die in der Kontrollaorta zu finden war, gehört mit 4.3 nmol/g zu 1-Methyl-Histidin.

Die Tabellen 4a, 4b und 4c zeigen die Konzentrationen aller Verbindungen nach Ethanolinjektion. In Tab. 4a hat die Aminosäure Glutamat mit 1533 nmol/g im Mittel die größte Konzentration und Ornithin mit 61.1 nmol/g die kleinste.

Taurin, Tab. 4b, hat die mit Abstand höchste Konzentration aller Verbindungen in der Aorta der Ethanolratten. An 3062 nmol/g kommt auch in Tab. 4c keine Verbindung annähernd heran und nur Glutamin, Glycin und Alanin reichen mit ihren Konzentrationswerten in Bereiche von knapp über 1000 bzw. 1100 nmol/g.

Die niedrigste Konzentration lässt sich mit 3.7 nmol/g bei 3-Methyl-Histidin, Tab. 4c, ausmachen und nur alpha-Aminobutyricsäure und 1-Metyl-Histidin zeigen mit je 4.8 nmol/g eine ebenfalls unter 10 nmol/g liegenden Konzentration in Aorten der Ethanolgruppe.

**Herz** - In Tab. 5a ist Glutamat mit 4546 nmol/g die Aminosäure mit der größten Konzentration und Ornithin mit 132 nmol/g die Verbindung mit der kleinsten. Die 4546 nmol/g von Glutamat stellen im Kontrollherzen nicht den Wert mit der

höchsten Konzentration; diesmal ist es Taurin, Tab. 5b, mit einem im Vergleich zu den bisherigen Geweben mindestens fünfmal höheren Wert von 21657 nmol/g. Auch Threonin, Glutamin und Alanin zeigen in Tab 5c nun Konzentrationen, die in den Tausenden liegen und beim Glutamin bei einzelnen Ratten sogar über 10000 nmol/g reichen. Die Verbindung mit der niedrigsten Konzentration in Tab. 5c und dem Kontrollherzen überhaupt, ist beta-Alanin mit 12.6 nmol/g.

Die Tabellen 6a, 6b und 6c geben die Konzentrationen der Aminoverbindungen im Herzen von Ethanolratten wieder. Die 5814 nmol/g von Glutamat stellen in Tab. 6a wieder die größte Konzentration dar und Ornithin mit 181 nmol/g ist ebenfalls wieder die Verbindung mit dem kleinsten Konzentrationswert in dieser Tabelle.

Taurin, Tab. 6b, hat mit 23471 nmol/g mit Abstand den höchsten Wert in dem Herzen der mit Ethanol injizierten Ratten und aller Verbindungen in allen untersuchten Geweben überhaupt. In Tab. 6c kommt Glutamin mit durchschnittlich 9516 nmol/g nahe an die 10000 nmol/g -Grenze heran und überschreitet diese im Falle von zwei Einzelwerten der Ethanolratten( Ratten 2 + 4) sogar. Reduziertes Glutathion und Alanin sind zwei weitere Verbindungen, die mit ihren Konzentrationen zumindest in vierstellige Konzentrationswerte reichen. Die kleinste Konzentration bleibt in Tab. 6c und dem Ethanolherzen beta-Alanin vorenthalten, das mit 14.3 nmol/g in diesem Bereich ziemlich allein dasteht.

**Pancreas** - Auch in der Tab. 7a, der Pancreaskontrolltabelle für die an Harnstoff- und Citratzyklus beteiligten Aminosäuren bzw. -verbindungen, ist Glutamat wieder die konzentrationsreichste AS, diesmal aber wieder in den gesamten untersuchten Geweben. Mit 5288 nmol/g, im Gegensatz zu Taurin mit 1825 nmol/g , Tab. 7b und Phosphoethanolamin, 2560 nmol/g, Glutamin, 2112 nmol/g, Alanin, 1825 nmol/g und Lysin, 1015 nmol/g (alle Tab. 7c), ist Glutamat, mit Ausnahme von Glycin, 4018 nmol/g, mindestens zweimal größer als alle anderen höher konzentrierten Verbindungen. Die niedrigste, gemessene Verbindung in der Pancreaskontrolle ist mit 26.8 nmol/g 3-Methyl-Histidin.

Die Konzentrationen der Aminosäuren und ihrer verwandten Verbindungen in dem Pancreas der mit Ethanol injizierten Ratten sind in den Tabellen 8a, 8b und

8c angeführt. In Tab. 8a ist wieder einmal Glutamat die Aminosäure mit der größten Konzentration von 6050 nmol\g, die diesmal auch die Höchstkonzentration im Pankreas der mit Ethanol behandelten Ratten darstellt. Arginin ist in Tab. 8a die Verbindung mit der niedrigsten Konzentration von 307 nmol\g. Taurin, Tab. 8b, hat einen Wert von 1380 nmol\g, der mit zu den höchsten im Ethanolpancreas gehört. Weitere vierstellige Konzentrationen finden sich bei Phosphoethanolamin, Glutamin, Glycin und Alanin, Tab. 8c.

3-Methyl-Histidin hat mit 30.3 nmol\g die kleinste Konzentration in dem Pancreas der Ethanolratten.

**Bronchus** - Wie auch bei den übrigen Geweben, mit Ausnahme des Plasmas, ist Glutamat in Tab. 9a diejenige Verbindung mit der höchsten Konzentration; in diesem Fall aber ist Taurin in Tab. 9b mit 7078 nmol\g sehr viel höher als die 2359 nmol\g von Glutamat. Die kleinste Konzentration in Tab. 9a liegt bei Citrullin mit 117 nmol\g. Die Glutaminkonzentration in Tab. 9c mit 3882 nmol\g ist ebenfalls höher als die des Glutamat. Weitere vierstellige Konzentrationen sind bei Serin, Glycin und Alanin zu finden. Die niedrigste auffindbare Konzentration in Tab. 9c mit 39.6 nmol\g bleibt diesmal dem beta-Alanin vorbehalten.

Die Konzentrationen der Aminoverbindungen in den Ethanolratten für den Bronchus sind in den Tabellen 10a, 10b und 10c aufgeführt. Glutamat ist auch hier wieder die Verbindung mit der höchsten Konzentration in Tab. 10a. Mit 2572 nmol\g ist Glutamat deutlich höher konzentriert als z.B. Citrullin, das mit 76.4 nmol\g die niedrigste Konzentration in der Tab. 10a aufweist. In Tab. 10b findet sich Taurin mit 4880 nmol\g und ist damit auch die Verbindung mit der höchsten Konzentration im Bronchus nach Ethanolgabe überhaupt, denn auch in der Tab. 10c findet sich keine höher konzentrierte Verbindung mehr. Nur Glutamin, Glycin und Alanin sind mit Konzentrationen von 3076, 2165 und 1890 nmol\g noch über der 1000 nmol\g-Grenze. Die Verbindung mit der kleinsten Konzentration ist gamma-Aminobutyricsäure mit 15.7 nmol\g.

### **3.5. Vergleich der Konzentrationen von Aminosäuren und verwandten Verbindungen zwischen der Kontroll- und Ethanolgruppe im Plasma und in den untersuchten Geweben**

Die Tabellen 11a, 11b, 11c, 11d, 11e und 11f sind zum direkten Vergleich von Mittelwerten der Aminosäuren und verwandten Verbindungen von Kontroll- und Ethanolgruppen der untersuchten Gewebe gedacht und bieten außerdem einen Überblick über durch Ethanol verursachte signifikante Veränderungen und Tendenzen in einzelnen Aminoverbindungen.

**Plasma** - In den mit Ethanol injizierten Ratten, Tab. 11a, b, c, finden sich im Mittel meist niedrigere Werte als in den Kontrollratten, wobei aber nur Arginin, Aspartat, Serin, Glycin, Alanin, Phenylalanin und beta-Alanin signifikante Unterschiede zeigen. Mit einem p-Wert zwischen 0,05 und 0,10 fast signifikant zeigen Glutamat, Taurin, Phosphoserin, Phosphoethanolamin, alpha-Aminoapadicsäure, Leucin, Tryptophan und Lysin einen eindeutigen Trend. Alle anderen Aminoverbindungen zeigen keinen so eindeutigen bzw. gar keinen Trend. In einigen der Verbindungen, wie z.B. Ammoniak, Glutamin, alpha-Amino butyricsäure, Valin und Cystin finden sich auch höhere Mittelwerte als in den Kontrollratten, aber diese Veränderungen sind nicht groß und nicht signifikant.

Die signifikanten Unterschiede bzw. Verminderungen nach Ethanolinjektion sind bildlich noch einmal in Graph 1 festgehalten. Zusätzlich zeigt die kleine Tabelle auf derselben Seite auf wieviel Prozent des Kontrollwertes der Ethanolwert abgesunken ist. Hierbei zeigt sich der größte signifikante Konzentrationsverlust beim Arginin, das auf ca. 68% (32% Verlust) des Ausgangs- bzw. Kontrollwertes abgesunken ist. Der kleinste Verlust liegt mit 17,5% bei Serin.

**Aorta** - Wie schon im Plasma gibt es auch in der Aorta, Tab. 11a, b, c, Werte, die sowohl niedriger als auch höher als in den Kontrollen sind, wobei es für die Erhöhungen, im Gegensatz zum Plasma, zumindest eine einzelne Signifikanz, aber ansonsten keinen weiteren Trend gibt. Es findet sich in der Aorta nur ein signifikant erhöhtes Phosphoserin, Tab. 11c, das nach Ethanolinjektion von 19,2 auf 27,7 nmol\g heraufgegangen ist. Signifikante Verminderungen gibt es in der Aorta nur zwei; in Tab. 11a geht Ammoniak von 160 auf 102 nmol\g und Taurin,

Tab. 11b, von 4164 auf 3062 nmol/g zurück. Zumindest einen Abwärtstrend ( $0.05 < p < 0.10$ ) zeigen die Verbindungen Ornithin, von 94.5 auf 61.1 nmol/g, und Aspartat, von 286 auf 196 nmol/g, in Tab. 11a. Zusätzlich findet sich in Tab. 11c beim reduzierten Glutathion ein Abwärtstrend von 1089 auf 604 nmol/g.

In Graph 2 sieht man diese Veränderungen graphisch dargestellt und die Tabelle unter dem Graphen gibt wieder die prozentual übriggebliebene Konzentration an, die für Ammoniak 63.75%, für Taurin 73.75% und für Phosphoserin, da erhöht, 144% beträgt.

**Herz** - Bei den Veränderungen nach Ethanolinjektion zeigt das Herz, Tab. 11d, e, f, nun ein relativ unterschiedliches Bild von Plasma und Aorta. Man findet überwiegend einen Konzentrationsanstieg und weniger einen Abfall der Konzentrationen. In Tab. 11d z.B. sind bis auf Aspartat, wo sich ein sehr deutlicher und signifikanter Abfall findet, andere Werte mehr oder weniger deutlich erhöht. Von den deutlichen Erhöhungen sind Ornithin und Glutamat signifikant. In der nächsten Tabelle, Tab. 11f, gibt es nur sechs Verbindungen mit erniedrigten Werten, als da wären Phosphoserin, Valin, Isoleucin, Leucin, Tyrosin und Tryptophan. Von diesen sechs ist Leucin signifikant und Isoleucin mit  $0.05 < p > 0.10$  im Trend erhöht. Alle anderen Veränderungen in Tab. 11f sind Erhöhungen. Signifikante Erhöhungen zeigen sich nach statistischer Auswertung bei gamma-Aminobutyricsäure und Carnosin. Mit  $0.05 < p < 0.10$  im deutlichen Aufwärtstrend liegen Serin, Glycin und Methionin.

Zur Verdeutlichung des Konzentrationsanstiegs bzw. -abfalls ist Graph 2 heranziehbar, der die signifikanten Veränderungen noch einmal bildlich festhält. In der darunterliegenden Tabelle zeigen sich die verbliebenen Konzentrationen in Prozent, d.h. Prozentzahlen über hundert zeigen den Anstieg, Prozentzahlen unter hundert den Abfall der Konzentrationen in den Ethanolratten an. In diesem Fall bedeutet das, dass Ornithin auf 137 %, Glutamat auf 128 %, Gaba auf 141 % und Carnosin auf 137 % des Kontrollwertes angestiegen sind. Aspartat ist mit seiner Konzentration auf 50.5 % und Leucin auf 74.2 % seines Kontrollwertes zurückgegangen.

**Pancreas** - Auch in der Gruppe der Pancreas-Ethanolratten, Tab. 11d, e, f, findet man wieder signifikante Unterschiede. Diese sind ebenfalls, wie schon beim Herz, in beide Richtungen gerichtet, sprich, es finden sich Erhöhungen und Verminderungen in den Konzentrationen. Von den Erhöhungen sind allerdings keine signifikant in den Tab. 11d+e, trotzdem sind die Trends von Arginin und Glutamat, Tab. 11d, durch  $0.05 < p < 0.10$  beachtungswürdig. Bei den Verminderungen finden sich im Gegensatz dazu drei signifikante in Tab. 11d + 11e; Citrullin, mit einer Verminderung von 500 auf 359 nmol/g, Aspartat von 661 auf 337 nmol/g, beide Tab. 11d, und Taurin von 1825 auf 1380 nmol/g, Tab. 11e, zeigen eine signifikante Verminderung. Tab. 11f zeigt, daß Valin, Isoleucin, Leucin und Histidin signifikant und 3-Methyl-Histidin,  $0.05 < p < 0.10$ , im Trend ansteigen. Bei den erniedrigten Werten in Tab. 11f fallen Phosphoethanolamin, Asparagin, Alanin und Lysin auf. Von diesen Verbindungen sind Asparagin und Alanin signifikant, die anderen zwei fallen mit  $0.05 < p < 0.10$  in den Abwärtstrend. Alle übrigen Verbindungen in der Tab. 11f sind statistisch nicht auffällig.

In Graph 3 und der darunterliegenden Tab. werden die Unterschiede der signifikanten Veränderungen noch einmal graphisch und rechnerisch dargestellt. Die Konzentrationen, in Prozent ausgedrückt, die nach Ethanolinjektion erscheinen, sind folgende; Citrullin, 71.8%, Aspartat, 51.0%, Taurin, 75.6%, Asparagin, 85.8%, Alanin, 66.4%, Valin, 156%, Isoleucin, 173%, Leucin, 133% und Histidin, 130%.

**Bronchus** - Im Ethanolbronchus, Tab. 11d, e, f, herrschen diesmal wieder die Konzentrationsverminderungen vor, d.h. es gibt keine statistisch gesicherten Erhöhungen. In Tab. 11e zeigt Taurin aber eine signifikante Verminderung von 7078 nmol/g auf 4880 nmol/g. Weiterhin finden sich in Tab. 11f noch Signifikanzen für Verminderungen bei Isoleucin, gamma-Aminobutyricsäure, Ethanolamin und Histidin. Außerdem liegen Glutamin und Lysin, Tab. 11f, mit  $0.05 < p < 0.10$  noch im Trend.

Graph 4 und die darunterliegende Tabelle geben wieder einen Überblick über alle signifikanten Veränderungen, die im Bronchus nach Ethanolinjektion auftreten. Der Prozentsatz, der von den signifikanten Konzentrationsveränderungen der

oben erwähnten Verbindungen noch erhalten bleibt, beträgt für Taurin 68.9%, Isoleucin 66.1%, Gaba 51.8%, Ethanolamin 61.0% und für Histidin 69.9%.

### **3.6. Veränderungen der Quotienten aus Gewebe und Plasma von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Ratten nach Injektion von Ethanol**

Die Tabellen 12a, 12b, 12c, 12d, 12e und 12f stellen die Quotienten aus Gewebe und Plasma von Kontroll- und Ethanolgruppe gegenüber. Ausserdem sind signifikante Veränderungen und mit  $0.05 < p < 0.10$  im Trend liegende Werte gekennzeichnet. Auch hier sind die Aminosäuren und verwandten Verbindungen in drei verschiedenen Tabellen zusammengefasst. Als erstes die sechs wichtigen Aminoverbindungen, die in der NO-Synthese im Harnstoff- und Citratzyklus vorkommen, dann Taurin und zuletzt diejenigen Verbindungen, die eine untergeordnete Rolle spielen.

**Aorta/Plasma** - Der Quotient aus Aorta und Plasma, in Tab. 12a, verändert sich bei Ethanolratten im Vergleich zu den Kontrollratten in der Mehrheit kaum. Nur bei Ammoniak ist ein Trend mit  $p < 0.10$  feststellbar. Auch Taurin in Tab. 12b zeigt nur eine nicht signifikante und nicht trendmäßige Veränderung. Taurin ist mit einem Quotienten von 29.17 in der Kontrollgruppe ca. 30 mal höher konzentriert in der Aorta als im Plasma. Aspartat, Glutamat und Ammoniak zeigen mit ca. 27.20 und 20 etwa ähnlich hohe Quotienten. Citrullin hat mit einem Wert von 1.34 in diesen beiden Tabellen den kleinsten Quotienten. In Tab. 12c finden sich hauptsächlich höhere Werte in der Ethanolgruppe. Von diesen vergrößerten Quotienten sind nun auch drei signifikant. Alpha-Aminoapadinsäure, Glycin und beta-Alanin zeigen ein  $p < 0.05$ . Andere Verbindungen zeigen keine signifikanten Unterschiede in den Quotienten zwischen der Ethanolgruppe und der Kontrollgruppe. Den größten Quotienten in beiden Gruppen mit über 50 besitzt Phosphoethanolamin, den kleinsten Tryptophan mit ca. 0.7.

**Herz/Plasma** - In den Herz/Plasma-Quotienten finden sich eine Reihe deutlicher Veränderungen. In Tab. 12a zeigt sich nur bei Aspartat ein von ca.



48.15 auf 36.64 verkleinerter Quotient, der mit  $p = 0.06$  einen Trend nach unten zeigt. Obwohl auch Ammoniak mit einer Verminderung des Quotienten von 46 auf 35 deutlich verkleinert erscheint, lässt sich statistisch doch keine Signifikanz feststellen. Beim Glutamat, Tab. 12a, vergrößert sich der Wert von 63 auf 104; dieser Sprung ist deutlich signifikant. Mit den höchsten Quotienten von ca. 131 in der Kontrollgruppe und ca. 172 in der Ethanolgruppe zeigt sich, daß Taurin die Gruppe der höheren Quotienten im Herzen deutlich anführt. Nur Glutamat kommt in der Ethanolgruppe in dreistellige Bereiche. In Tab. 12c sind sechs weitere signifikante Quotientenzunahmen nach Ethanolinjektion zu verzeichnen. Phosphoserin, Serin, alpha-Aminoapadicsäure, Glycin, Anserin und Carnosin sind signifikant, Phosphoethanolamin, Alanin, Lysin und Histidin sind außerdem mit  $0.05 < p < 0.10$  im Trend erhöht. Tryptophan hat auch im Herz/Plasma-Quotienten mit ca. 0.6 den kleinsten aller Quotienten, Taurin wie schon erwähnt den Größten.

**Pancreas/Plasma** - Bei den Quotienten aus Pancreas und Plasma, Tab. 12d, e, f, gestaltet sich das Bild etwas anders. Alles in allem finden sich neun signifikante Veränderungen, von denen aber nicht mehr alle Quotientenzunahmen darstellen. In Tab. 12d z.B. zeigt Citrullin eine signifikante Abnahme in der Ethanolgruppe. In Tab. 12d finden sich aber auch noch zwei signifikante Quotientensteigerungen; Arginin und Glutamat, wobei Arginin mit einem Ethanolgruppenwert von 3.77 den kleinsten, bzw. Glutamat mit ca. 108 den höchsten Quotienten in Tab. 12d besitzt. Alanin hat die zweite, aber sonst auch einzige signifikante Quotientenabnahme in Tab. 12f. Signifikanzen lassen sich in dieser Tabelle sonst nur noch für Zunahmen in Quotienten finden. Phosphoserin, Isoleucin, Leucin, Histidin und 3-Methyl-Histidin zeigen diese Signifikanzen und alpha-Aminoapadicsäure, Cystein und Phenylalanin mit  $0.05 < p < 0.10$  einen deutlichen Trend. Den absolut größten Quotienten mit 376 in der Ethanolgruppe besitzt Phosphoethanolamin. Mit 1.62 hat Tryptophan den kleinsten Quotienten in der Tab.12f, als auch in der gesamten Pancreas/Plasma-Gruppe.

**Bronchus/Plasma** - Auch für diesen Quotienten gibt es in den Tab. 12d, e, f ein alternierendes Bild von Zu- und Abnahmen, allerdings sind dies nur wenige. In Tab. 12d gibt es nur eine Signifikanz und zwar die von Glutamat, die eine Quotientenvergrößerung von ca. 30 auf ca. 45 zeigt. In Tab. 12f treten nur noch je

ein bis zwei signifikante Veränderungen bzw. Trends auf. Für die Quotientenzunahme liegt die Signifikanz bei Phosphoethanolamin und der Trend mit  $p = 0.10$  bei Phosphoserin. Die signifikante Verminderung des Quotienten von Glutamin ist die einzige verbleibende interessante Auffälligkeit bei den Quotienten aus Bronchus und Plasma. Die höchsten Quotienten finden sich mit 74.37 und 129.46 bei Phosphoethanolamin und die niedrigsten mit 1.17 und 1.73 wiederum bei Tryptophan.

### **3.7. Gewebe/Plasma-Korrelationen von Aminosäuren und verwandten Verbindungen in Kontroll- und Ethanolratten**

Die Tabellen 13a, b, c, d, e und f geben die Korrelationen zwischen einzelnen Verbindungen in den Geweben Aorta, Herz, Pancreas, Bronchus und dem Plasma in Kontroll- und Ethanolgruppen wieder. Für die Aufteilung in den einzelnen Tabellen gilt dasselbe Schema wie bisher.

**Aorta/Plasma** - In Tab. 13a findet sich für die Kontrollgruppe in Aspartat eine signifikante positive Korrelation mit  $r = 0.91$ . Die anderen positiven Korrelationen von Arginin, Ornithin und Glutamat liegen zwischen 0.38 und 0.15 und sind nicht signifikant. Citrullin und Ammoniak zeigen negative Korrelationen, aber ebenfalls keine Signifikanzen. In der Ethanolgruppe finden sich gar keine Signifikanzen. In Tab. 13a sind insgesamt vier negative und zwei positive Korrelationen. Die zwei positiven zeigen sich bei Glutamat und Ammoniak, die negativen bei den übrigen Verbindungen. In Tab. 13b unterscheiden sich beim Taurin die beiden Korrelationen mit  $r = 0.41$  und  $r = 0.36$  in beiden Gruppen nicht. Tryptophan und Histidin zeigen beide in der Kontrollgruppe in Tab. 13c mit  $r = 0.83$  eine signifikante positive Korrelation. Bis auf 1- und 3-Methyl-Histidin, die mit einem  $0.05 > r < -0.05$  keine Korrelation aufweisen, zeigen alle anderen Verbindungen entweder positive oder negative Korrelationen. In der Ethanolgruppe finden sich auch in dieser Tabelle keine signifikanten Korrelationen, sondern bis auf Lysin, Histidin und 3-Methyl-Histidin ( $0.05 > r < -0.05$ ) ebenfalls nur positive und negative Korrelationen zwischen -0.67 und 0.59.

**Herz/Plasma** - In der Kontrollgruppe, Tab. 13a, findet sich beim Ammoniak eine signifikante negative Korrelation ( $r = -0.91$ ) und ansonsten, bis auf Arginin ( $r = -0.05$ ), liegen die übrigen Korrelationen zwischen  $-0.06$  und  $0.47$ . Die Ethanolgruppe weist auch hier keine Signifikanzen auf und bleibt mit seinen  $r$ -Werten zwischen  $-0.69$  und  $0.44$ . Taurin, Tab. 13b, zeigt in der Ethanolgruppe dann das erste Mal eine Signifikanz mit  $r = -0.81$ . Das Kontrolltaurin bleibt mit  $0.48$  unauffällig. Auch in Tab. 13c findet sich für die Kontrollgruppe nur ein  $r$ -Wert, der statistisch signifikant ist. Isoleucin zeigt mit  $r = 0.93$  eine deutliche Korrelation zwischen Herz und Plasma. Nur alpha-Aminoapadicsäure zeigt mit  $r = 0.01$  keine Korrelation, alle anderen Verbindungen zeigen positive bzw. negative Werte zwischen  $-0.49$  und  $0.70$ . In der Ethanolgruppe, Tab. 13c, gibt es zwei signifikante Korrelationen mit jeweils  $r = 0.86$ . Das eine ist Asparagin, das andere ist Methionin. In dieser Gruppe sind alle anderen Verbindungen nicht signifikant korrelativ zwischen  $-0.39$  und  $0.74$ .

**Pancreas/Plasma** - Auch in der gesamten Kontrollgruppe von Pancreas/Plasma-Korrelationen gibt es nur zwei Signifikanzen. Die beiden erwähnten Signifikanzen liegen mit einer negativen Korrelation,  $r = -0.81$ , bei Threonin und einer positiven,  $r = 0.85$ , bei Tyrosin. Alle anderen nicht signifikanten Verbindungen bleiben mit ihren Werten im Bereich von  $-0.59$  zu  $0.70$ . In der gesamten Ethanolgruppe von Pancreas/Plasma-Korrelationen gibt es keine signifikanten  $r$ -Werte. Nur Alanin in Tab. 13f und Glutamat kommen mit  $r = 0.75$  und  $r = -0.74$  und einem dazugehörigen  $p = 0.08$  bzw.  $p = 0.09$  aus dem statistischen T-Test einer Signifikanz nahe. Die Werte der gesamten Ethanolgruppe liegen zwischen  $-0.48$  und  $0.66$  und sind statistisch nicht korrelativ.

**Bronchus/Plasma** - Zumindest in der Kontrollgruppe lassen sich ein paar Signifikanzen finden. In Tab. 13d mit  $r$ -Werten zwischen  $-0.48$  und  $0.57$  und auch Taurin in Tab. 13e mit  $r = 0.59$  finden sich keine Signifikanzen, aber in Tab. 13f gibt es bei Phosphoethanolamin, Methionin, Isoleucin und Tryptophan dann vier signifikant positive  $r$ -Werte. Die übrigen Verbindungen liegen zwischen  $-0.48$  und  $0.73$ . Der  $r$ -Wert von  $0.73$  gehört zu Valin, Tab. 13f, und ist mit  $p = 0.06$  nahezu signifikant. In der Ethanolgruppe für die Bronchus/Plasma-Korrelationen, Tab. 13d, 13e und 13f, lassen sich wieder keine Signifikanzen

finden. Nur Phenylalanin und beta-Alanin zeigen mit ihren p-Werten von 0.08 bzw. 0.07 für negative Korrelationen mit  $r = -0.76$  und  $r = -0.78$  fast eine statistische Signifikanz. Die Aminosäuren Valin und Isoleucin zeigen mit  $0.05 > r < -0.05$  gar keine Korrelation und alle anderen Verbindungen liegen mit ihren r - Werten zwischen -0.78 und 0.65.

### **3.8. Konzentrationsverhältnisse von sieben ausgewählten Verbindungen in den untersuchten Geweben vor und nach Injektion von Ethanol**

Die Tabellen 14a und 14b geben die Quotienten der sieben etwas genauer untersuchten Aminoverbindungen, sprich, der sechs an der NO-Synthese in Harnstoff- und Citratzyklus beteiligten Verbindungen und Taurin, an. Die Reihenfolge entspricht der in den bisher verwandten Tabellen, also Arginin, Citrullin, Ornithin, Aspartat, Glutamat, Ammoniak und zuletzt Taurin. Auch hier wurde wieder in Kontroll- und Ethanolgewebe unterschieden.

**Plasma** -Im Plasmaverhältnis der Verbindungen zueinander, Tab. 14a, finden sich nicht viele signifikante Wechsel von Kontroll- zu Ethanolgruppe. Der einzige signifikante p- Wert ( $p < 0.05$ ) ergibt sich für den Aspartat/Ammoniak-Quotienten, der sich nach Ethanolinjektion von 1.30 auf 0.86 verringert hat. Diese Verringerungen treten auch bei anderen Verhältnissen auf und scheinen sogar noch deutlicher, sind aber nicht signifikant. Der Arginin/Ammoniak-Quotient z.B. geht von 13.60 auf 8.02 zurück, ist damit auch der größte Quotient im Plasma, zeigt aber mit  $p = 0.15$  noch nicht einmal einen Trend. Zwei andere Trends für Quotientenabnahmen in Ethanolratten zeigen sich bei Arginin/Citrullin und bei Glutamat/Ammoniak, wo der p- Wert zwischen 0.05 und 0.10 liegt. Man findet in der Ethanolgruppe auch Erhöhungen des Verhältnisses von einzelnen Verbindungen, aber keine dieser Erhöhungen zeigt einen Trend.

**Aorta** - Wenn sich im Plasma für die meisten Quotienten Verminderungen finden lassen, sieht das Bild in der Aorta, Tab. 14a, anders aus. Von den sechs Signifikanzen sind fünf bei vergrößerten Quotienten zu finden.

Arginin/Ammoniak, Citrullin/Aspartat, Citrullin/Ammoniak, Citrullin/Taurin und

Glutamat/Ammoniak sind diese fünf signifikanten vergrößerten Verhältnisse; Citrullin/Ornithin zeigt mit  $p = 0.06$  außerdem noch einen zusätzlichen Trend. Die signifikante Verminderung, Aspartat/Glutamat, steht alleine da, da sie nicht durch weitere Tendenzen unterstützt wird. Den größten Unterschied im Konzentrationsverhältnis zueinander zeigen Glutamat und Ammoniak mit 15.02 in der Aorta der Ethanol-behandelten Ratten, den kleinsten Citrullin und Taurin mit 0.01 in den Kontrollratten.

**Herz** - Die signifikanten Veränderungen im Herz, Tab. 14a, sind wieder beidseitig, obwohl auch hier wieder die Quotientenzunahmen, diesmal aber nur knapp, in der Überzahl sind. Von den insgesamt elf Signifikanzen sind sechs den Zunahmen in der Ethanolgruppe zuzuschreiben. Diese sechs sind Arginin/Aspartat, Arginin/Ammoniak, Citrullin/Aspartat, Ornithin/Aspartat, Ornithin/Ammoniak und zuletzt Glutamat/Ammoniak. All diese Erhöhungen sind sehr deutlich, sowohl von der Quotientenzunahme als auch von der statistischen Auswertung her. Die Abnahmen in den Verhältnissen von Arginin/Ornithin, Ornithin/Taurin, Aspartat/Glutamat, Aspartat/Ammoniak und Aspartat/Taurin sind ebenfalls deutlich, obwohl im Falle von Ornithin/Taurin die Unterscheidung sehr schwierig fällt, da die Quotientenabnahme von 0.008 auf 0.006 nicht sehr deutlich wirkt. Tendenzen lassen sich ansonsten keine mehr finden. Neben Ornithin/Taurin als kleinster Quotient ist Glutamat/Ammoniak mit 12.35 bzw. 16.54 der größte im Herzen.

**Pancreas** - Auch im Pancreas, Tab. 14b, findet man elf signifikante Quotientenzu- bzw. abnahmen, wobei diesmal sieben Zunahmen und vier Abnahmen ein etwas anderes Bild geben. Zusätzlich zu den sieben Zunahmen von Arginin/Citrullin, Arginin/Ornithin, Arginin/Aspartat, Arginin/Taurin, Ornithin/Aspartat, Glutamat/Taurin und Ammoniak/Taurin gibt es keinen Trend mehr. Die vier signifikanten Abnahmen ergeben sich bei den Verhältnissen von Citrullin/Glutamat, Aspartat/Glutamat, Aspartat/Ammoniak und Aspartat/Taurin. Ausserdem findet sich bei Citrullin/Ammoniak fast noch ein Trend mit  $p = 0.12$  für die Gruppe der Verminderungen nach Ethanolinjektion.

Den kleinsten Quotienten in beiden Gruppen mit 0.05 stellt Arginin/Glutamat dar, den größten mit 15.57 bzw. 17.45 Glutamat/Ammoniak. Nur sechs der insgesamt einundzwanzig Quotienten sind überhaupt größer als 1.

**Bronchus** - Tab. 14b enthält für die Bronchusverhältnisse nicht mehr so viele deutliche Ergebnisse wie in den Geweben von Herz und Pancreas. Es gibt für die Zu- und Abnahme je einen signifikanten Quotienten und sonst keine weiteren Trends mehr. Die signifikante Zunahme im Verhältnis von Glutamat/Taurin hat somit im Bronchusgewebe eine Einzelstellung, wie auch die einzige signifikante Abnahme bei Arginin/Glutamat. Citrullin/Taurin zeigt mit je 0.02 in Kontroll- und Ethanolgruppe den niedrigsten Quotienten im Bronchusgewebe. Glutamat/Ammoniak ist mit 9.71 und 12.53 auch hier wieder der größte Quotient.

### **3.9. Korrelationen von Verhältnissen aus sieben ausgewählten Verbindungen in den untersuchten Geweben vor und nach Injektion von Ethanol**

Die Tabellen 15a und 15b zeigen die Korrelationen der oben vorgestellten, ausgewählten Verbindungen.

**Plasma** - Für das Kontrollplasma, Tab. 15a, hat Aspartat zu Taurin eine signifikant positive Korrelation mit  $r = 0.77$  und Glutamat zu Taurin eine ebenfalls signifikant positive Korrelation mit  $r = 0.73$ . Ansonsten lassen sich im Kontrollplasma keine weiteren Signifikanzen, weder positiver noch negativer Natur, feststellen. Die übrigen Korrelationen liegen zwischen -0.44 und 0.53 und sind nicht signifikant. Im Ethanolplasma bleibt die signifikante Korrelation zwischen Aspartat und Taurin bestehen, allerdings ist es jetzt eine negative mit  $r = -0.80$ . In dem gesamten Ethanolplasma gibt es keine anderen Signifikanzen und die verbleibenden Korrelationen liegen zwischen -0.51 und 0.69.

**Aorta** - Die Kontrollaorta in Tab. 15a hat auch nicht mehr als je eine positive und eine negative signifikante Korrelation zu bieten. Die Negative gehört mit  $r = -0.88$  zu Ornithin und Glutamat, die Positive mit  $r = 0.88$  zu Arginin und Aspartat. Die restlichen Verbindungsverhältnisse sind alle zwischen -0.65 und 0.38 korrelativ,

also nicht signifikant. In der Ethanolorta bietet sich kein anderes Bild. Je eine signifikante positive und eine signifikante negative Korrelation und mit  $r = 0.78$  ( $p = 0.07$ ) eine fast signifikant positive und mit  $r = -0.76$  ( $p = 0.08$ ) eine fast signifikant negative. Die positive Signifikanz ist mit  $r = 0.85$  zwischen Arginin und Ammoniak, die negative mit  $r = -0.87$  zwischen Arginin und Taurin. Die fast signifikante positive Korrelation findet sich bei Aspartat und Glutamat, die fast signifikante negative bei Arginin und Citrullin. Der übrige r-Wertebereich liegt zwischen  $-0.69$  und  $0.72$ .

**Herz** - Im Kontrollherz, Tab. 15a, ergeben sich vier Signifikanzen und drei fast signifikante Verhältnisse. Die vier Signifikanzen sind alle positive Korrelationen und die drei Trends finden sich ebenfalls bei positiven Korrelationen. Die signifikanten Beziehungen bestehen bei Arginin/Ornithin, Arginin/Glutamat, Arginin/Ammoniak und Ornithin/Taurin. Die Trends, die mit  $0.05 < p < 0.09$  fast signifikant sind, gehören mit  $r = 0.78$ ,  $r = 0.79$  und  $r = 0.74$  zu Arginin/Taurin-, Ornithin/Glutamat- und Ornithin/Ammoniak-Verhältnissen. Keine der vorkommenden negativen Korrelationen ist auch nur annähernd signifikant. Citrullin und Ornithin stehen in keinem korrelativen Verhältnis zueinander und die restlichen Korrelationen liegen zwischen  $-0.45$  und  $0.70$ . Das gesamte Ethanolherz zeigt nur positive Korrelationen, von denen sechs signifikant sind. Die folgenden Verhältnisse, Arginin/Ammoniak, Citrullin/Ornithin, Citrullin/Ammoniak, Citrullin/Taurin, Glutamat/Ammoniak und Glutamat/Taurin zeigen mit  $r = 0.82$  und  $p < 0.05$  die erwähnten Signifikanzen und Arginin/Citrullin und Ammoniak/Taurin mit  $r = 0.79$  ( $p = 0.06$ ), bzw.  $r = 0.78$  ( $p = 0.07$ ) zwei weitere, fast signifikante, Trends. Der gesamte verbleibende Korrelationswertebereich liegt zwischen  $0.14$  und  $0.72$ .

**Pancreas** - Der Kontrollpancreas, Tab. 15b, zeigt gar keine Signifikanzen und ebenfalls keine Trends. Positive und negative Korrelationen halten sich in etwa die Waage. Nur Arginin/Ammoniak und Ornithin/Taurin zeigen durch  $0.05 > r > -0.05$  weder eine positive noch eine negative Korrelation. Alle übrigen Korrelationen liegen zwischen  $-0.67$  und  $0.58$ . Im Pancreas nach Ethanolinjektion gibt es je eine negative und eine positive signifikante Korrelation. Citrullin und Ammoniak sind mit  $r = -0.86$  und  $p = 0.05$  negativ und Ornithin und Taurin mit  $r = 0.91$  und  $p = 0.05$  positiv korrelativ. Alle anderen

aufgeführten Verhältnisse sind bis auf Glutamat/Ammoniak im r-Wertebereich von -0.62 zu 0.63 korrelativ.

**Bronchus** - Der Kontrollbronchus in Tab. 15b hat nur eine signifikant positive Korrelation in Ornithin/Aspartat zu bieten. Der r- Wert hierfür beträgt  $r = 0.88$  und der p -Wert muss natürlich  $p < 0.05$  betragen. Arginin/Aspartat hat mit  $r = 0.72$  ( $p = 0.07$ ) noch einen fast signifikant positiven Trendwert zu bieten. Ornithin/Ammoniak hat mit  $r = 0.04$  keine Korrelation vorzuweisen und die restlichen Verbindungen verhalten sich im Bereich von -0.37 zu 0.61 korrelativ.

In den Ethanolratten zeigt der Bronchus insgesamt drei interessante Korrelationen, von denen aber nur zwei signifikant sind. Diese beiden Signifikanzen sind positiv korrelativ und ergeben sich bei Arginin/Aspartat,  $r = 0.97$ , und bei Citrullin/Glutamat,  $r = 0.83$ . Die dritte interessante Korrelation findet sich in dem Verhältnis von Arginin zu Citrullin und weist einen r-Wert von  $r = 0.74$  mit einem p-Wert von  $p = 0.10$  auf. Ansonsten lassen sich nur noch drei nicht-korrelative Verhältnisse anführen, zum einen bei Ornithin/Ammoniak,  $r = -0.03$ , und zum anderen bei Aspartat/Ammoniak,  $r = -0.03$ , und zuletzt bei Glutamat/Taurin mit ebenfalls  $r = -0.03$ . Der gesamte Wertebereich des Ethanolbronchus liegt ansonsten zwischen -0.52 und 0.69.



## 4. Diskussion

### 4.1. Methoden und allgemeine Betrachtungen

In der hier durchgeführten Untersuchung ist wie beschrieben die Methode der Ionenaustauschchromatographie (HPLC) mit fluorimetrischer Bestimmung angewandt worden. Diese Methode ist aus mehreren Gründen bevorzugt worden. Diese Gründe sind die in einer Untersuchung wichtigsten Faktoren wie Effektivität, Spezifität und Sensivität. In den für die Untersuchung zubereiteten Gewebeproben wurden einundvierzig verschiedene, aber zum Teil doch sehr ähnliche bzw. verwandte Verbindungen nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ bestimmt. Die Auftrennung und Bestimmung dieser Verbindungen ist durch die Verwendung des Austauschharzes und durch einen Proteinstandard sehr spezifisch, da die Positionen jeder einzelnen Verbindung somit definiert sind.

Durch diesen doch recht einfachen Aufwand ist diese Methode sehr effektiv, da man viele Daten in einem zeitlich vertretbaren Zeitraum gewinnen kann und auch Veränderungen der Versuchsumstände auf individuelle Notwendigkeiten durchführbar sind, ohne die gesamte Methode zu verändern. Außerdem ist die Sensivität der Methode sehr hoch. Die kleinste gemessene Konzentration in dieser Untersuchung betrug bei beta-Alanin  $1,3 \text{ nmol/ml}$  im Plasma einer der Ethanolratten. Die unterste Nachweisgrenze für diese Methode liegt aber noch mehr als 100mal niedriger bei  $10 \text{ pmol/ml}$  oder g. Ein weiterer positiver Aspekt dieser Methode ist die äußerst hohe Spannbreite der Konzentrationsmessung, da selbst die Konzentration von Taurin mit  $23471 \text{ nmol/g}$  im Herzen einer der Ethanolratten ohne Schwierigkeiten zu bestimmen war. Damit war eine 18000mal höhere Konzentration als beim beta-Alanin bestimmt. Durch Verwenden eines externen und internen Standards ist die Möglichkeit von zufälligen und systematischen Fehlern beim Benutzen dieser Methode sehr niedrig gehalten.

Den Ratten der Experimentalgruppe wurde eine 20%ige( hergestellt aus 100% Ethanol ) Ethanollösung in Volumina zwischen 2.0 und 2.8 ml injiziert, so dass die Ratten alle 2g Ethanol\kg Körpergewicht verabreicht bekamen.

Diese Konzentration von Ethanol wurde gewählt, da bei verschiedenen vorherig durchgeführten Versuchen zur Erforschung der Wirkungen von Ethanol diese Konzentration verwendet wurde und damit gute und ausreichend gültige Ergebnisse erzielt wurden[93]. Nach 30-minütiger Inkubationszeit wurden die Versuchstiere dann dekapitiert und das Procedere der Plasma- und Gewebegewinnung durchgeführt. Diese Inkubationszeit von 30 Minuten hat sich bei Experimenten in Bezug auf die Wirkung des Alkohols auf das Plasma als sinnvoll erwiesen[93], da sich zu diesem Zeitpunkt die meisten und stärksten signifikanten Veränderungen im Plasma gezeigt haben.

#### **4.2. Resultate aus vorausgegangenen Untersuchungen**

Das Interesse der Forschung an Aminosäuren ist sehr groß, da sie als Grundlage allen Lebens betrachtet, Aufschluss über viele biochemische Vorgänge im Körper bringen können. Das Interesse an einzelnen Aminosäuren kommt immer dann auf und hält sich eine geraume Zeit, wenn eine neue wichtige Funktion entdeckt, aber noch nicht erklärt wurde, wie z.B. bei Arginin, als bekannt wurde, dass Arginin und das Radikal Stickstoffmonoxid(NO) im Zusammenhang stehen. Daraufhin sind viele Studien gemacht worden, die deren Zusammenhang und deren vielfältige Effekte auf den Organismus untersuchen und erklären sollten und teilweise konnten. Auch Taurin ist in den Mittelpunkt des Forschungsinteresses gelangt, nachdem man herausgefunden hat, dass es nicht nur in der Bildung von Gallensalzen gebraucht wird, ihm sondern auch noch Funktionen in der Kontrolle von Blutdruck und Herzfrequenz und eine Schutzfunktion gegen Oxidantien am Auge zugeschrieben wird. Außer diesen zwei Beispielen gibt es natürlich noch weitere, von denen im weiteren noch einige erwähnt werden.

Die in der Vergangenheit durchgeführten Studien beziehen sich zum großen Teil; auf das Plasma[93,16,34,110,54,33,51] und liefern somit auch gut vergleichbare

Referenzwerte, die mit unseren Werten verglichen, sehr ähnliche Resultate zeigen, die im Rahmen von  $\pm 100\%$  liegen. Diese Unterschiede lassen sich durch verschiedene Faktoren erklären. Zum einen differieren das Alter und damit auch das Gewicht der benutzten Ratten[118] von denen anderer Studien, zum anderen sind die Konzentrationen der Aminosäuren von dem Metabolismus[132] der benutzten Versuchstiere abhängig und dieser wiederum hängt somit von der Dekapitationszeit und genetischen Unterschieden in Stämmen von gezüchteten Versuchstieren[93,24,52,38] zusammen. Auch andere Organe, wie Leber, Muskel, Gehirn, Pancreas, Herz und Aorta, sind in Bezug auf Aminoverbindungen untersucht worden, aber oft sind entweder nur einige wenige Verbindungen betrachtet worden, oder aber andere Interessensschwerpunkte wie Transportsysteme, Proteinsynthese oder andere metabolische Aspekte standen im Vordergrund. Für Leber, Muskel und Gehirn lassen sich absolute Konzentrationen finden, die auch später noch kurz erwähnt werden. Vom Pancreas existieren ebenfalls noch ziemlich gut vergleichbare Referenzwerte, die nur in zwei Fällen, Aspartat und Arginin, von mehr als  $\pm 100\%$  abweichen. Auch in diesem Fall spielt das geringere Gewicht der damals benutzten Versuchstiere eine wesentliche Rolle. Am Herzen ist nur eine Konzentrationsmessung von Aminosäuren durchgeführt worden [135], bzw. war es uns nicht möglich, mehr Daten aufzufinden. Bei dieser Studie im Jahre 1966 wurden die Konzentrationen auf pro 100ml intrazellulären Wassers bezogen, so daß ein Vergleich der Werte schwierig ist. Für die in unserer Studie untersuchten Gewebe gibt es also bis auf Plasma und Pancreas keine effektiv vergleichbaren Referenzwerte. Da es anscheinend eine Datenlücke in Aorta, Herz und Bronchus gibt, bringt unsere Studie für weitere Untersuchungen neue Referenzwerte. Mit diesen neuen Informationen füllt sich das Wissensnetz auf dem Gebiet der Aminosäuren und neue Überlegungen und Spekulationen können angestellt werden.

#### **4.3. Resultate in den Kontrollgruppen**

Bevor ich auf die Resultate unserer Untersuchung eingehe, möchte ich noch erläutern, warum wir auch hier die Organe wieder einzeln betrachten. Da jedes Organ unterschiedliche Aufgaben im Organismus hat, sind die individuellen

Eigenschaften wie z.B. Funktion, Physiologie, Metabolismus und Distribution der Aminoverbindungen voneinander verschieden. Daher scheint es sinnvoll, die Organe wie auch bisher in der schon bekannten Reihenfolge von Plasma, Aorta, Herz, Pancreas und Bronchus zu diskutieren. Zusätzlich beziehen wir aber doch die Ergebnisse aus anderen Organen, wie z.B. Leber, Gehirn und Muskel mit ein, um organspezifische Unterschiede herauszustellen.

Im **Plasma** finden sich grundsätzlich und ohne Ausnahme die geringsten Konzentrationen aller untersuchten Verbindungen. Das macht in sofern Sinn, da das Plasma das Transportsystem für die Aminoverbindungen darstellt, d.h. die Moleküle werden entweder von dem Plasma an die verschiedenen Organe abgegeben und dort verstoffwechselt oder die Organe geben verstoffwechselte Moleküle an das Plasma ab[132]. Da die Gewebe alle höhere Konzentrationen als das Plasma haben, müssen die Verbindungen immer gegen einen Konzentrationsgradienten aus dem Plasma aufgenommen werden. Wenn nun allerdings im Plasma eine höhere Konzentration herrschte, würden die Verbindungen, zumindest die kleineren, dem Gesetz der Diffusion folgen und einen Konzentrationsausgleich anstreben.

Der Transport aus dem Plasma in die verschiedenen Organe kann auf verschiedene Mechanismen zurückgeführt werden. Zu diesen Transportsystemen zählen Adsorption an der Zelloberfläche von bestimmten Blutbestandteilen, Carriersysteme [138,126] und direkte Aufnahme im Antiport mit der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase [63,37].

Diese Mechanismen sind noch nicht völlig geklärt und unterliegen noch vielen Spekulationen. Außerdem sollen Hormone, Elektrolyte und cAMP [92] noch beeinflussende Rollen spielen.

Im Plasma finden sich nun, wie oben schon erklärt, die niedrigsten Konzentrationen aller Verbindungen. Bei den Aminoverbindungen, die im Vordergrund unseres Interesses standen, fanden sich z.B. bei Taurin große signifikante Unterschiede. Die Taurinkonzentration im Plasma lag bei 182 nmol/ml und im Herzen z.B. bei 21657 nmol/g. Aber auch in Aorta, Pancreas und Bronchus sind die Konzentrationen des Taurins zwischen 10 und 35 mal höher als im Plasma. Auch alle anderen Verbindungen in den Tab. 11a, 11b, 11d und 11e zeigen diese Spannweite an Konzentrationsunterschieden. Bei der Untersuchung auf korrelative Zusammenhänge unter den einzelnen wichtigen

Aminoverbindungen, Tab. 15a, sind bei Aspartat/Taurin und Glutamat/Taurin signifikant positive Korrelationen gefunden worden, für die wir aber keine Erklärung gefunden haben und sie deshalb nur als Ergebnis stehen lassen.

Im Vergleich mit Geweben, die nicht in unserer Studie untersucht wurden, z.B. Leber, Gehirn und Muskel, fanden sich ebenfalls im Plasma die niedrigsten Werte. Die Erklärung für diese Gewebe ist naturgemäß dieselbe, die oben schon gegeben wurde. In das Bild der Ergebnisse der Plasmaspiegel passen zwei Aminosäuren, Glutamin und Alanin, sehr gut hinein. Diese beiden sind nämlich Transportverbindungen für Aminogruppen im Organismus; Glutamin transportiert aus fast allen Geweben das überschüssige Ammonium zur Leber und Alanin ist hauptsächlich für den Transport des Ammoniaks aus dem Muskel verantwortlich. Glutamin hat aus diesem Grund mit 510 nmol/ml die höchste Konzentration und Alanin liegt mit 180 nmol/ml unter den drei höchstkonzentriertesten im Plasma.

Die **Aorta** zeigt wie gesagt nur bei AAA, A-ABA, 1- und 3-MET-HIS kaum eine bzw. keine zum Plasma unterschiedliche Konzentration. Alle anderen Verbindungen sind dreimal bis zweiundvierzigmal (PEA) höher konzentriert als im Plasma. Taurin zeigt z.B. mit 4164 nmol/g eine mehr als zwanzigmal höhere Konzentration als die 182 nmol/ml im Plasma. Auch Ammoniak, Glutamat und Aspartat liegen in erhöhtem Maße in der Aorta vor. Zu erwähnen bliebe auch noch die Tatsache, daß bei der statistischen Auswertung Aspartat eine signifikant positive Korrelation zwischen seiner Plasmakonzentration und seiner Aortakonzentration zeigt, Tab. 13a, d.h., daß es zwischen der Konzentration von Aspartat im Plasma und in der Aorta eine Abhängigkeit gibt. Wenn die Konzentration im Plasma steigt oder fällt, steigt oder fällt sie auch in der Aorta. Zwei weitere signifikant positive Aorta/Plasma-Korrelationen lassen sich bei Tryptophan und Histidin finden, Tab. 13c. Alle anderen Verbindungen zeigen keine Korrelationen in Aorta/Plasma. Warum Glutamin und Alanin auch in der Aorta noch so hohe Konzentrationen zeigen, Glutamin 995 nmol/g und Alanin 1010 nmol/g, ist nicht klar, aber da wir die Aorta komplett entnommen haben, läßt sich auch nicht feststellen, aus welchem Teil der Aorta diese hohen Konzentrationen stammen. Die in Frage kommenden Transportmechanismen sind schon besprochen worden und wie diese genau funktionieren ist auch noch nicht geklärt, aber c-AMP spielt in der Aorta mit Sicherheit eine Rolle[92]. Es

wird nicht nur eine stimulatorische Rolle des c-AMP auf die Aminosäureaufnahme in die Aorta diskutiert, sondern auch sein Einfluss auf deren Integration in die Proteine der einzelnen Wandschichten[92].

Für die Aminoverbindung Arginin gibt es anscheinend noch spezielle Transportsysteme. Zum einen fand man ein  $\text{Na}^+$ -unabhängiges Carriersystem,  $\gamma^+$ -Carriersystem, welches zur aktiven Aufnahme von Arginin fähig ist und zum zweiten ein  $\text{Na}^+$ -abhängiges System, welches die Aminoverbindung absorbiert. Beide Systeme ließen sich durch andere L-Aminosäuren, L-Leucin, L-Serin und L-Aspartat, hemmen, was darauf schließen lässt, daß diese Systeme nicht nur Arginin-spezifisch sind und somit auch andere Aminoverbindungen aufnehmen. Daß diese Transportsysteme so speziell auf Arginin untersucht worden sind, hängt mit der Tatsache zusammen, daß Arginin der Vorläufer des schon erwähnten Stickstoffmonoxid ist und dieses als Vasodilatator in der Aorta vielleicht eine sehr wichtige Rolle in der Blutdruckkontrolle spielt. Verglichen mit der Leber[129] zeigt die Aorta im Allgemeinen keine großen Konzentrationsunterschiede, das Gehirn[103] dagegen zeigt bei einigen Aminoverbindungen, z.B. Phosphoethanolamin, Aspartat, Glutamat, Ammoniak und Gaba selbstverständlich größere Konzentrationen als im Plasma.

Im Muskel sind die Aminosäuren Glutamin, Glutamat und Alanin höher konzentriert als in der Aorta, da dies die Verbindungen sind, die die Ammoniummoleküle aus dem Muskel und anderen Organen transportieren.

Wie schon bei der Aorta, sind keine Referenzwerte für das **Herz** gefunden worden, so dass beim Vergleich von Herz und Plasma davon ausgegangen werden muss, dass die ermittelten Konzentrationen der Aminoverbindungen die einzigen Anhaltspunkte bzw. -Werte sind. Die Konzentrationen im Herzen sind nicht nur höher als im Plasma[55,124], sondern auch höher als in der Aorta. Taurin, wie schon erwähnt, zeigt eine sehr hohe Konzentration im Herzen, die mehr als 100mal größer ist als die im Plasma. Das ist insofern interessant, daß Taurin eine sehr wichtige Rolle in der Osmoregulation der Herzzellen spielen soll und damit beim Aufrechterhalten der Stabilität des Herzen mit von Bedeutung ist[64,63]. Die sehr hohen Konzentrationen von Glutamin und Alanin, 8264 nmol/g bzw. 1977 nmol/g, belegen die Tatsache, daß Glutamin und Alanin Transportamino-säuren von überschüssigen Aminogruppen sind, die im Herzen selbstverständlich nach Energiegewinnung abgegeben werden müssen. Dies

erklärt die hohe Glutaminkonzentration im Herzen. Es gibt noch einen weiteren Grund für die relativ hohen Konzentrationen. Das Herz, obwohl kein sekretorisches Organ an sich, besitzt in seinen Myozyten eine proteinkatabole als auch eine proteinanabole Potenz.

Bei der Suche nach Korrelationen, Tab. 13a-c, zwischen Herz und Plasma lassen sich nur zwei, je eine signifikant positive und eine signifikant negative, finden. Ammoniak zeigt mit  $r = -0.91$  die negative und Isoleucin mit  $r = 0.93$  die positive Korrelation. Das Ergebnis, die signifikant negative Korrelation bei Ammoniak zeigt, dass, je mehr Ammoniak aus dem Herzen transportiert wird, desto mehr Ammoniak sich im Plasma finden lässt. Die Tatsache, daß weder Glutamin noch Alanin eine negative, geschweige denn eine signifikante Korrelation zeigen, widerspricht der oben gemachten Begründung für die hohen Glutamin- bzw. Alaninkonzentrationen. Auf der Suche nach Korrelationen untereinander, Tab. 15a, zeigen Arginin/Ornithin, Arginin/Glutamat, Arginin/Ammoniak und Ornithin/Ammoniak signifikant positive Korrelationen. Dies zeigt einen weiteren Weg des Ammoniakexports, die Harnstoffsynthese, die bisher noch nicht erwähnt wurde, auf. Alle diese Verbindungen sind an der Harnstoffsynthese und damit an dem Ammoniakexport beteiligt. Die Transportsysteme sind natürlich auch hier wieder interessant. Da die Konzentrationen der Aminoverbindungen im Herzen ebenfalls wieder größer sind als im Plasma, muss auch hier wieder ein aktiver Transport stattfinden. In einer Studie von Hait, Kypson und Massih[55] wurde auch hier wieder die Hypothese aufgestellt, dass die Aufnahme von freien Aminosäuren über intrazelluläre c-AMP-Konzentrationen gesteuert wird. Diese Steuerung ist aber abhängig von Hormonen, wie z.B. Insulin und Glucagon, die die cAMP-Konzentrationen beeinflussen [55]. Für Taurin scheint es hier sogar ein spezifisches Transportsystem zu geben, welches über beta-Rezeptoren stimuliert werden kann und nur Taurin aufnimmt[64]. Durch die Tatsache, dass die Stimulation über beta-Rezeptoren funktioniert, lässt sich auch vermuten, dass Stress ebenfalls die Taurinaufnahme erhöht. Dadurch lassen sich Beobachtungen erklären, bei denen sich Herzhypertrophien nach längerer Stressaussetzung entwickelt haben, die zum Schluss teilweise in Herzversagen resultierten [64]. Weiterhin gibt es noch Transportsysteme, die die neutralen Aminosäuren nach Größe einteilen und transportieren. Das L-System transportiert große neutrale Aminosäuren (LNAA = large neutral amino acids, Na<sup>+</sup>-unabhängig), das A-System kleine neutrale Aminosäuren (SNAA = small neutral amino acids, Na<sup>+</sup>-

abhängig) und das ASC-System ( $\text{Na}^+$ -abhängig) transportiert spezifisch Alanin, Serin, Cystin und Threonin[138]. Da diese Systeme ebenfalls durch Insulin und Glucagon gesteuert werden können, ist nicht ganz klar, ob es sich bei dem durch c-AMP vermittelten System um einen Teil oder vielleicht sogar das ganze zuletzt genannte Systemnetz handelt.

Daß der **Pancreas** als sekretorisches Organ einen hohen Umsatz an Aminosäuren hat, ist nicht verwunderlich und so kommt es, dass viele der Aminoverbindungen eine recht hohe Konzentration aufweisen. Einige der Verbindungen zeigen aber auch nicht ganz die erwarteten Ergebnisse. Arginin z.B. ist nur doppelt so groß wie im Plasma und auch Taurin ist nur zehnmal größer als im Plasma. Dagegen zeigen Glutamat, Aspartat oder Citrullin die in allen Geweben gemessenen höchsten Konzentrationen. Aus der hohen Proteinumsatzrate lässt sich dann auch recht einfach die hohe Ammoniakkonzentration,  $342 \text{ nmol/g}$  erklären, die aber auch wieder abgebaut bzw. abtransportiert werden muss. Der Abbau geschieht durch den Harnstoffzyklus, dessen Bestandteile wie gerade erwähnt, in hohen Konzentrationen vorliegen. Der Abtransport geschieht wie immer durch die Transportaminosäuren Alanin und Glutamin, die auch im Pancreas in sehr hohen Konzentrationen,  $1825 \text{ nmol/g}$  und  $2112 \text{ nmol/g}$ , vorhanden sind. Auf der Suche nach Korrelationen, Tab. 13d-f, wurden zwei Korrelationen zwischen Pancreas und Plasma gefunden. Zum einen zeigt Threonin mit  $r = -0.81$  eine signifikant negative Korrelation, d.h., daß wenn die Konzentration im Plasma raufgeht, geht sie im Plasma runter und umgekehrt; zum anderen findet man bei Tyrosin eine signifikant positive Korrelation. Bei den Verbindungen untereinander, Tab. 15b, findet sich keine signifikante Korrelation. Eine weitere pancreasspezifische Konzentration scheint die des Glycins zu sein, da Glycin in keinem anderen Organ so hoch konzentriert,  $4018 \text{ nmol/g}$ , vorkommt. Eine Erklärung hierfür könnten vagale Nervenendigungen sein, die im endogenen Pancreas vermutet werden. Bekannterweise kommt Glycin im Gehirn und Rückenmark als inhibitorischer Transmitter vor und daher ist es wahrscheinlich, daß diese Glycinkonzentrationen tatsächlich zu den vagalen Nervenendigungen gehören, mit denen die Insulinsekretion gesteuert wird.

Passend zu den hohen Glycinkonzentrationen wurde ein Transportmechanismus gefunden, der von Natrium abhängig, ein Molekül Glycin gegen zwei Moleküle



Natrium in die Pankreaszelle transportiert[20,66]. Dieses System "Gly"[14] ist noch nicht geklärt und noch eine Hypothese, aber es scheint spezifisch für Glycin zu sein. Die Aufnahme aller anderen Aminoverbindungen wird auf das sog. und schon erwähnte A-System zurückgeführt, welches an der basolateralen Seite der exokrinen Pankreasmembran lokalisiert sein soll. Dieses System wird auch Na<sup>+</sup>/Alanin-Cotransport-System genannt[19]. Außerdem wurden für fast alle transportierten Aminoverbindungen Sättigungskonstanten festgestellt. Ob diese sättigbaren Systeme Schutzsysteme darstellen oder andere wichtige Bedeutung haben, ist noch nicht geklärt.

Im **Bronchus** zeigen viele der Verbindungen ziemlich hohe Konzentrationen, die in den Fällen von Arginin, Phosphoserin, Threonin, Serin, Asparagin, Alanin, Valin, Methionin, Cystein, Isoleucin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin, beta-Alanin, Ethanolamin und Histidin sogar die oft mit Abstand höchsten Konzentrationen in unserer Untersuchung besitzen. Diese Ergebnisse können leider auch nicht mit anderen Resultaten verglichen werden, da am Bronchus bisher anscheinend kein Interesse bestand. Daher gibt es auch keine Angaben oder Vermutungen über Transportmechanismen oder Gründe für hohe Konzentrationen. Ob die hohen Konzentrationen aus dem Bronchusknorpel oder vielleicht aus der Bronchialschleimhaut, die wir nicht voneinander trennen konnten, stammen, ließ sich leider nicht feststellen, aber geben zumindest Anlass zur Spekulation. Da die Schleimhaut z.B. viel Schleim produziert, muss auch eine große Umsatzrate vorhanden sein, die die hohen Konzentrationen erklären könnte.

Statistisch ließen sich verschiedene Korrelationen nachweisen. Bei der Untersuchung auf Signifikanzen fanden wir zwischen Bronchus und Plasma vier Verbindungen, die alle signifikant positive Korrelationen aufweisen. Phosphoethanolamin, Methionin, Isoleucin und Tryptophan sind also zwischen Bronchus und Plasma voneinander abhängig, d.h., wenn eine der Verbindungen im Plasma steigt oder fällt, steigt oder fällt ihre Konzentration im Bronchus ebenfalls. Ornithin/Aspartat ist die einzig signifikante Korrelation bei zwei Verbindungen untereinander. Mit  $r = 0.88$  zeigen diese zwei Aminoverbindungen im Bronchus eine ziemlich hohe positive Korrelation zueinander. Erklärungen hierfür können wir bisher leider nicht geben, aber wir haben zumindest Referenzwerte geschaffen, die es in späteren Studien einmal möglich machen, einige dieser Umstände zu erforschen.

#### 4.4. Resultate in den Experimentalgruppen

Die bisher gefundenen Wirkungen von Ethanol in anderen Studien, z.B. auf das Plasma, haben wir natürlich ebenfalls erwartet. Wie andere schon bevor, [54,33,34] haben auch Milakofsky et. al. [93] gezeigt, dass eine akute Dosis Ethanol die Konzentrationen von vielen Plasmaaminoverbindungen senkt. Dass die vorherigen Studien im Detail etwas andere Ergebnisse gezeigt haben, die nur in der Anzahl und Höhe der Konzentrationsverminderungen abweichen, lässt sich mit der Vermutung erklären, dass zum einen die genetischen Unterschiede der benutzten Versuchstiere eine Rolle gespielt haben [93,52,38] und zum anderen die Dekapitation der Versuchstiere bekannterweise die Versuchsergebnisse verändern kann [94]. Trotz allem haben wir die teilweise erwarteten Resultate, wenn auch nicht so beeindruckend wie bisher, im Plasma beobachten können.

Insgesamt haben wir im **Plasma** nach der Ethanolinjektion sieben signifikante und acht trendmäßige Verminderungen finden können, die, bis auf ein oder zwei Ausnahmen, bei Milakofsky et. al. [93] auch gesehen wurden. Arginin und Alanin sind auch bei uns stark vermindert, wobei die Konzentration von Alanin in unseren Versuchen nur um ca. 25%, Graph 1, im Gegensatz zu 45% bei Milakofsky [93], vermindert ist. Die stärkste Veränderung zeigt Arginin, wo sich nach Ethanolinjektion eine um 32% verminderte Konzentration, Graph 1, zeigt. Die geringste signifikante Verminderung zeigt sich mit ca. 18% bei Serin. Einige der Trends würden sogar größere Verminderungen zeigen, aber durch die manchmal recht großen individuellen Unterschiede bei den Versuchstieren, Tab. 1a-c, sind die Standardabweichungen für signifikante Veränderungen zu groß. Aus den gefundenen Resultaten lassen sich die eine signifikante und drei trendmäßigen Veränderungen nach Ethanoladministration in den Verhältnissen der etwas genauer untersuchten Aminoverbindungen, Tab. 14a, erklären. Die signifikante Verminderung im Konzentrationsverhältnis von Aspartat und Ammoniak von 1.30 auf 0.86 lässt sich auf die signifikante Verminderung des Aspartats im Plasma der Ethanolratten zurückführen. Auch die Trends bei Arginin/Citrullin, Citrullin/Aspartat und Glutamat/Ammoniak lassen sich durch entweder verminderte und/oder unveränderte Konzentrationen nach

Ethanolinjektion erklären. Im Ethanolplasma gibt es bei den Korrelationen, Tab. 15a, jetzt nur noch eine signifikante. Die vorher positive Korrelation bei Aspartat/Taurin ist jetzt signifikant negativ. Auch einige der anderen positiven Korrelationen, die allerdings nicht signifikant sind, sind nach Ethanolinjektion negativ korrelativ. Einen umgekehrten Wechsel von negativ auf positiv findet man nicht. Dieser Wechsel kommt ebenfalls durch Verminderung einiger der Konzentrationen zustande. Wenn eine der zwei Verbindungen vermindert ist, ändert sich das Verhältnis der beiden zueinander und damit kann sich auch die Abhängigkeit voneinander verändern, was dann evtl. in umgedrehten Korrelationen resultieren kann. Wie kommen diese Verminderungen im Plasma zustande? In den Studien von Milakofsky[93] und Hagman und Eriksson [33,34,53,54] werden einige Erklärungen gegeben und auch Vermutungen angestellt. Um diesen folgen zu können, muss aber erst einmal auf die Eliminationswege des Alkohols aus dem Organismus eingegangen werden. Die Oxidation des Alkohols durch das Enzym Alkoholdehydrogenase ist mittlerweile als der Hauptabbauweg postuliert und akzeptiert worden. Es gibt aber noch andere, nicht ganz so wichtige bzw. effiziente Wege; zum einen das mikrosomale Ethanol-oxidierende System, zum anderen den Weg über Katalase [53] und zuletzt die nicht-oxidative Ausscheidung durch Lunge und Niere, die aber nur 10% der ganzen Alkoholelimination[53], im Gegensatz zu den ca. 90% der oxidativen Ausscheidung, ausmacht. Bei der Oxidation werden Coenzyme, wie z.B.  $\text{NAD}^+$  und in geringem Maße  $\text{NADP}^+$ , benötigt, die zu  $\text{NADH}$  und  $\text{NADPH}$  reduziert werden[52,53]. Die Oxidation des Ethylalkohols über die eben erwähnten Coenzyme der Alkoholdehydrogenase zu Acetaldehyd und dann Acetat, produziert mit Acetaldehyd ein sehr reaktives Zwischenprodukt, das als einer der Hauptgründe für die Alkoholschäden im Organismus von Säugetieren angesehen wird. Die zuerst aufgestellte Vermutung[52], dass Acetaldehyd an sich für die Konzentrationsverminderung im Plasma sorgt, konnte bisher nicht direkt bestätigt werden, aber es wurden andere Faktoren, die indirekt mit Acetaldehyd, besser gesagt mit seiner Oxidation zu tun haben, erforscht. Da kein unbegrenzter Vorrat an  $\text{NAD}^+$ , das zu  $\text{NADH}$  reduziert wird, in der Leber zur Verfügung steht, müssen andere oxidative Agenzien, wie z.B. Pyruvat,  $\text{NADH}$  wieder zu  $\text{NAD}^+$  oxidieren. Da Pyruvat das deaminierte Grundgerüst von Ketonkörpern aller Aminoverbindungen ist, ist es sehr wahrscheinlich, dass die Aminoverbindungen

als Quelle von Ketonkörpern zu Pyruvat abgebaut werden und so dem Plasma entzogen werden[52,53,93]. Durch den vermehrten Bedarf an Pyruvat, wird das Lactat/Pyruvat-Verhältnis größer, wodurch sich der Redoxzustand verändert. Dieser veränderte Redoxzustand in der Leber, wird als einer der dem Alkohol zugeschriebenen Wirkmechanismen betrachtet.

Ein weiterer Grund für die konzentrationsvermindernde Wirkung des Ethanol im Plasma ist das Ethanolmolekül an sich. Wie in diesen Studien angedeutet, kann Ethanol durch direkte Wirkung auf adrenergische beta-Rezeptoren wirken, die dann in der Leber [46] durch Dilatation der Gefäße den Blutfluss und dadurch den Metabolismus und damit die Aufnahme von Aminosäuren aus dem Plasma erhöhen[93,46]. Eine weitere Hypothese wird diskutiert. Kakihana und Butte[34] haben 1979 gezeigt, dass eine akut verabreichte Dosis Ethanol Adrenalin und Noradrenalin aus der Nebennierenrinde freisetzt. Diese Freisetzung soll durch das Hypophysenhormon ACTH ausgelöst werden[34]. Außerdem wird normalerweise die Freisetzung von Nebennierenrindenhormonen durch sympathische Nerven aus dem ZNS kontrolliert, sodass es möglich ist, dass die Freisetzung grundsätzlich auch über die Wirkung von Ethanol auf das Gehirn ausgelöst werden kann. Die erhöhten Katecholaminspiegel im Blut bewirken eine Verminderung der Aminoverbindungskonzentrationen im Plasma [32,51,131,136] und obwohl die komplexen Wirkungen der Nebennierensteroid auf den Metabolismus von Proteinen, Fetten und Carbohydraten seit langem bekannt sind[34], sind noch nicht alle Mechanismen dieser Wirkungen geklärt. Auch hormonelle Wirkungen sind noch zu erwähnen. Durch eine hohe Dosis Ethanol entsteht im Blut eine Hyperglykämie, die im Organismus gesunder Säugetiere zu hohen Insulinspiegeln führt[93] und diese Insulinspiegel können zu verstärkter Aufnahme von Aminosäuren aus dem Plasma in Muskel und Fettgeweben führen. Der Blutzuckerspiegel fällt durch das vermehrt vorhandene Insulin anschließend und es resultiert eine Hypoglykämie[S.383]. Es gibt aber auch Studien, die gegen diese Hypothese sprechen und aussagen, dass Ethanol den Insulinspiegel in Menschen und Ratten heruntersetzt. Allerdings ließe sich dann die Hypoglykämie nicht mehr durch den Insulineinfluss erklären, sondern durch eine verminderte Gluconeogenese, die auf das erhöhte  $\text{NADH}_2/\text{NAD}^+$ -Verhältnis(s.o.) zurückzuführen ist[S.384-85]. Von all diesen möglichen Wirkungsweisen des Alkohols, wird zweien davon die meiste Beachtung geschenkt. Zum einen ist das die Oxidation des Ethanol und die Benutzung der Aminoverbindungen als Quelle

für Oxidationstionsmittel und die daraus resultierende Verschiebung des Redoxgleichgewichtes, zum anderen die sympathomimetische Wirkung des Alkohols auf beta-Rezeptoren und die daraus resultierende Freisetzung von Katecholaminen aus der Nebenniere.

In der **Aorta** hat die Ethanolinjektion nur wenige signifikante Veränderungen zum Vorschein gebracht. Von den Signifikanzen und Trends sind bis auf die signifikante Erhöhung des Phosphoserins von 19.2 auf 27.7 nmol/g alle übrigen in den Tabellen für die sieben herausgestellten Verbindungen, Tab. 11a+b, gefunden worden. Ammoniak und Taurin sind die zwei Aminoverbindungen, die signifikante Konzentrationsverminderungen zeigen und Ornithin und Aspartat diejenigen mit einem Trend nach unten. Es wird also deutlich, dass hauptsächlich die Substrate des Harnstoffzyklusses vom Alkohol betroffen sind. Auffällig ist dabei, dass es eigentlich noch keinen Hinweis für das Bestehen eines Harnstoffzyklusses in der Aorta gibt. Alle signifikanten Veränderungen in Tab. 14a, die die Verhältnisse dieser bestimmten Verbindungen zwischen Kontroll- und Ethanolgruppe betrachtet, sind durch die gerade erwähnten Konzentrationsverminderungen erklärbar. Ein Beispiel hierfür ist das Verhältnis Arginin/Ammoniak, das von 1.35 auf 1.76 hinaufgeht. Durch die signifikante Konzentrationsverminderung des Ammoniaks und die unverminderte Argininkonzentration in der Ethanol-aorta, wird dieses Verhältnis natürlich größer und in diesem Fall auch signifikant. Auch die Korrelationen dieser Verhältnisse sind von diesen Konzentrationsverminderungen betroffen, Tab. 15a. Das eben beschriebene Verhältnis zwischen Arginin und Ammoniak war zuvor negativ korrelativ und zeigt jetzt durch die Konzentrationsveränderung bei Ammoniak eine signifikant positive Korrelation. Dagegen ging die zuvor signifikant positive Korrelation in dem Verhältnis von Arginin und Aspartat durch die trendmäßige Verminderung in der Aspartatkonzentration verloren und es bleibt mit 0.12 ein sehr niedriger r-Wert zurück. Warum z.B. Arginin und Taurin nach Ethanolinjektion eine signifikant negative Korrelation zeigen, können wir nicht erklären, aber es scheint so, als ob diese Verbindungen nach Ethanolinjektion in einem gewissen Maße voneinander abhängig sind. Wie im Plasma beobachtet, geht Aspartat dort signifikant zurück und wie in Tab. 13a gezeigt, existiert eine positive Korrelation dieser Aminosäure zwischen Aorta und Plasma. Die Konzentrationsverminderung von Aspartat in der Aorta, lässt sich

also auf diese Abhängigkeit zurückführen. Da weniger Aspartat im Plasma vorliegt, aus welchem Grund auch immer, wird entweder weniger Aspartat in die Aorta transportiert, oder aber die Aorta gibt mehr Aspartat ins Plasma ab, um den Verlust im Plasma auszugleichen. Dadurch geht auch in dieser Tabelle, Tab. 13a, die signifikant positive Korrelation von Aspartat zwischen Aorta und Plasma in der Ethanolgruppe verloren und es resultiert eine negative, nicht signifikante Korrelation mit einem  $r = -0.64$ . Auch die zwei anderen zuvor signifikant positiven Aorta/Plasma-Korrelationen von Tryptophan und Histidin sind in der mit Ethanol behandelten Gruppe verloren gegangen und sind noch schwach bzw. gar nicht mehr korrelativ.

Wie Versuche mit akuter Ethanoladministration gezeigt haben [S.359], wird die Adenylzyklase-Aktivität durch Ethanol weder stimuliert noch verändert. Dieses Enzym ist für den c-AMP-Spiegel verantwortlich, der wie erläutert eine Funktion in der Aufnahme der Aminosäuren in die Aorta besitzt. Welcher Mechanismus demnach für die wenigen Veränderungen in der Aorta zuständig ist, oder ob es wie oben vermutet, eine Ausgleichreaktion ist, bleibt offen gestellt. Da aber Ammoniak eine signifikante Konzentrationsverminderung in der Ethanolaorta erfahren hat und Ornithin ebenfalls vermindert ist, muss es einen unbekanntem Mechanismus geben, denn die Korrelation,  $r = -0.68$  zwischen Ornithin und Ammoniak, Tab. 15a, spricht eigentlich gegen diese Beobachtung, da demnach ein erniedrigter Wert der einen Verbindung, einen erhöhten der anderen erwarten ließe.

Im **Herzen** zeigt die Ethanolinjektion eine sehr viel deutlichere Wirkung als in der Aorta. Es finden sich nur drei signifikante bzw. trendmäßige Konzentrationsvermindierungen und dagegen sieben Erhöhungen, Tab. 11d-f. Auch im Herzgewebe ist Aspartat wieder signifikant - in diesem Fall um fast 50% - vermindert. Leucin und Isoleucin stellen die weiteren signifikanten bzw. im Trend liegenden Verminderungen dar. Die signifikanten Erhöhungen bei Ornithin, Glutamat, Gaba und Carnosin werden von drei weiteren Trends, Serin, Glycin und Methionin, begleitet. Nach akuter Ethanolaufnahme scheint das Herz also mehr Aminoverbindungen aufzunehmen oder evtl. zu speichern als andere, bisher untersuchte Gewebe. Versuche mit Rattenherzen haben gezeigt, dass Insulin die Aufnahme von Aminosäuren in das Herzgewebe steigert [8,124,138]. Wie sich der Faktor Ethanol nun auf diese Aminosäureaufnahme auswirkt ist noch nicht bekannt, aber man kann vermuten, dass dieser Prozess beschleunigt

wird, denn zum einen kommt es nach Alkoholaufnahme zu einer Hyperglykämie [67,93] - durch Freisetzung von Katecholaminen - mit folgender Insulinausschüttung, zum anderen zu einer Erhöhung der Sekretinkonzentration[67], die ebenfalls zu einer vermehrten Insulin- und einer verminderten Glucagonausschüttung führt[67]. Der Konzentrationsverlust bei den Aminosäuren Leucin und Isoleucin läßt sich durch das LNAA-Transportsystem " System L" erklären und die Konzentrationszunahme bei Serin, Glycin und Methionin durch das " System A" . Der erhöhte Insulinspiegel stimuliert nämlich das " System A", welches unter anderem für den Transport von Serin, Glycin und Methionin zuständig ist[126,S.346].

Das "System L" ist ein sehr starkes Transportsystem, welches in beide Richtungen funktioniert[58,126], d.h. es kann auch aus den Zellen heraus transportieren. Da das " System L " eine sehr gute Austauschpotenz besitzt und das Herz gegen eine Aminosäureüberladung geschützt ist[126], besteht die Möglichkeit, dass Leucin und Isoleucin von dem " System L" aus der Zelle transportiert und an das Plasma abgegeben werden. Da wir im Plasma aber auch eine Verminderung anstatt einer Erhöhung der Konzentration von Isoleucin finden und keine Veränderung bei Leucin, stellt sich die Frage, ob diese Hypothese Bestand hat. Die Hypothese kann aber mit der noch zu diskutierenden Tatsache, dass Leucin und Isoleucin im Pancreas signifikant erhöht sind, Tab. 11f, gefestigt werden. Ob diese Mechanismen durch die direkte Wirkung von Insulin und Glucagon gesteuert werden, oder ob sie durch wie schon erwähnt cAMP-abhängige Membranproteine wirken, muss noch durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Der hohe Verlust an Aspartat lässt sich nur durch die Tatsache erklären, dass Aspartat zu seiner Ketosäure abgebaut und dann zu Pyruvat umgewandelt worden ist, da in fast allen untersuchten Geweben die Aspartatkonzentration gesunken ist und es kein bekanntes Organ gibt, in dem Aspartat gespeichert wird. Von der Aminoverbindung Taurin haben wir erwartet, dass ihre Konzentration nach Ethanolinjektion signifikant erhöht vorliegt, da durch die Stimulation der beta-Rezeptoren das für Taurin verantwortliche Transportsystem stimuliert hätte werden müssen. Da dies nicht der Fall ist, wird die Hypothese bekräftigt, dass der Gehalt des Taurins in den Herzmuskelzellen durch die Reversion des Influxsystemes relativ konstant gehalten wird, um die Stabilität der Muskelzellen aufrecht zu erhalten[63,64,65].

Der **Pancreas** zeigt fünf signifikante Verminderungen und vier signifikante Erhöhungen in den Konzentrationen nach Ethanolinjektion. Auffällig vermindert sind Aspartat (49%), Alanin (34%) und Citrullin (28%). Nicht ganz so deutlich herabgesetzt sind die Konzentrationen von Taurin (24%) und Asparagin (14%). Die Erhöhungen sind mit Valin (56%), Isoleucin (73%), Leucin (33%) und Histidin (30%) alle sehr deutlich, Graph 3. Das sog. " System A" scheint auch im Pancreas wieder eine Rolle zu spielen. Dieses auch Na<sup>+</sup>/Alanin -Cotransporter genannte System wird im Pancreas für die Aufnahme von fast allen nötigen Aminoverbindungen verantwortlich gemacht[14]. Es kann durch seine große Toleranz nicht nur kleine neutrale Aminoverbindungen transportieren, sondern auch große verzweigte[126]. Das " System A" transportiert ein Natrium-Kation gegen ein Alanin-Molekül. Anstelle des Alanin kann ein anderes Molekül einer neutralen Aminosäure in die Zelle transportiert werden. Dieses System kann auch in die entgegengesetzte Richtung arbeiten und dabei entgegen Konzentrationsgefälle transportieren. Wie aber wirkt sich jetzt die Ethanolinjektion aus? Wie schon gesagt, ist das Pancreas ein sekretorisches Organ und produziert einige Peptide und Hormone, die z.B. nach Nahrungsaufnahme freigesetzt werden und dementsprechend neu gebildet werden müssen. Auch nach der Alkoholaufnahme werden Peptide und Hormone zur Verarbeitung des Alkohols oder seiner Auswirkungen ausgeschüttet. Dieser Effekt und evtl. direkter Einfluss des Ethanols auf das " System A" bewirken die Zunahmen und Abnahmen der Konzentrationen der Aminoverbindungen, die oben aufgeführt worden sind. Da für dieses Transportsystem ein kompetitiver Mechanismus diskutiert wird[14,126], ist es auch möglich, dass nach Degradation einer oder mehrerer an dem Transportmechanismus beteiligten Verbindungen, das Verhältnis der kompetitiven Komponenten verschoben ist und dadurch ein vermehrter Transport der einen oder anderen Aminoverbindung stattfindet. Insgesamt ist über den Pancreas und seine Transportsysteme für Aminosäuren sehr wenig bekannt, da das Hauptaugenmerk im Pancreas auf seine Hormone und Peptide gerichtet war und daher ist es sehr schwierig detailliertere Hypothesen für Auswirkungen des Ethanols auf den Aminosäuretransport zu erstellen.

Im **Bronchus** findet sich in etwa dasselbe Problem. Es finden sich, wie auch im Plasma, nur Konzentrationsverminderungen, von denen fünf signifikant und zwei



trendmäßig sind. Auffällig ist, dass es diesmal keine der am Harnstoff- bzw. Zitratzyklus beteiligten Verbindungen betrifft. Taurin ist um 31% vermindert, Isoleucin um 34%, Gaba um 48%, Ethanolamin um 39% und Histidin um 30%, Graph 4. Die beiden Trends liegen bei Glutamin und Lysin, die nur auf Grund ihrer recht hohen Standardabweichungen als nicht signifikant auftreten. Da wir keine Informationen über Transportsysteme in oder aus dem Bronchus haben, können wir nur spekulieren, dass Ethanol oder die Ethanoldegradation die einzelnen Aminoverbindungen direkt beeinflusst und evtl. zu Pyruvat umbaut. Es finden sich auch keine Anzeichen dafür, dass die verminderten Aminoverbindungen von ein und demselben Transportsystem aus dem Bronchus transportiert worden sind. Die Tatsache, dass im Bronchus wie im Plasma nur Konzentrationsverminderungen vorkommen, lässt die Vermutung zu, dass es zwischen Plasma und Bronchus eine gewisse Verwandtschaft, um nicht zu sagen korrelative Abhängigkeit geben könnte. Es findet sich aber bei der Suche nach solchen Korrelationen keine einzige in der Ethanolgruppe, obwohl in der Kontrollgruppe vier solche Korrelationen bestanden.

#### **4.5. Zusammenfassung**

Die Injektion von Ethanol verändert, wie gezeigt in[52,93], die Konzentration von bestimmten Aminosäuren und verwandter Verbindungen im Plasma von Ratten und Kaninchen. Da bisher keine Referenzwerte, geschweige denn Resultate von solchen Injektionen aus anderen Organen als der Leber, dem Muskel und dem Gehirn bekannt sind, injizierten wir acht Kontrollratten eine Kochsalzlösung und acht Eperimentalratten eine Ethanollösung(2g/kg KG) intraperitoneal und dekapitierten die Tiere nach 30-minütiger Inkubationszeit. Danach entnahmen wir den Ratten Plasma und Organe und froren diese bei -80°C ein. Um die Konzentrationen von ca.40 Aminoverbindungen nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ zu ermitteln, bedienten wir uns einer HPLC(high performance liquid chromatographie)-fluorimetrischen Methode.

Wie die Ergebnisse aus unserer Studie zeigen, hat eine akute Dosis Ethanol eine deutliche Wirkung nicht nur wie berichtet im Plasma sondern auch auf verschiedene Gewebe des Organismus von Ratten.

**A)** Da bei Kontrollratten wie schon erwähnt, bisher keine vollständigen Aminosäurespiegelmessungen vorlagen, berichten wir hier zum ersten Mal über Profile von Aminoverbindungen in Aorta, Herz und Bronchus. Die Erstellung dieser Profile sollte in zukünftigen Untersuchungen helfen, etwas über den Gehalt an bestimmten Amminoverbindungen in den von uns untersuchten Geweben auszusagen. Außerdem sind unsere Ergebnisse Referenzwerte für weitere Nachforschungen auf dem Gebiet der Transportmechanismen zwischen Plasma und Geweben.

**B)** Bei Ethanolratten fanden wir

1.) im **Plasma** sieben signifikante Konzentrationsverminderungen (Arginin, Aspartat, Serin, Glycin, Alanin, Phenylalanin und beta-Alanin) und noch acht weitere (Glutamat, Taurin, Phosphoserin, Phosphoethanolamin, alpha-Aminoapadicsäure, Leucin, Tryptophan und Lysin) mit  $0.05 < p < 0.10$  im Trend liegende Verbindungen.

2.) in der **Aorta** zwei signifikante (Ammoniak und Taurin) und zwei trendmäßige Konzentrationsabnahmen (Ornithin und Aspartat). Außerdem fanden wir eine signifikante Zunahme (Phosphoserin), die allerdings nicht von Trends unterstützt wurde.

3.) im **Herz** zwei signifikante (Aspartat und Leucin) und eine im Trend liegende Verminderungen (Isoleucin), denen vier signifikante (Ornithin, Glutamat, GABA und Carnosin) und drei trendmäßige (Serin, Glycin und Methionin) Konzentrationserhöhungen gegenüber stehen.

4.) im **Pancreas** die meisten signifikanten Veränderungen unter den untersuchten Geweben. Fünf Konzentrationsverminderungen ( Citrullin, Aspartat, Taurin, Asparagin und Alanin), und vier Erhöhungen (Valin, Isoleucin, Leucin und Histidin) werden noch von einer im Trend liegenden Verminderung (Lysin) begleitet.

5.) im **Bronchus** fünf signifikante (Taurin, Isoleucin, GABA, Ethanolamin und Histidin) und zwei trendmäßige (Glutamin und Lysin) Verminderungen und keine Konzentrationssteigerungen.

Die Resultate aus unserer Untersuchung nach Ethanolinjektion zeigen, dass schon eine einmalige Verabreichung von Ethanol nicht nur den Spiegel der untersuchten Aminoverbindungen im Plasma senkt, sondern auch in den anderen untersuchten Geweben, Aorta, Herz, Pancreas und Bronchus zu verschiedenen Veränderungen führt. Es ist uns leider nicht immer gelungen zu

erklären, wie es zu diesen Veränderungen kommt, aber dies ist auch auf die bisher unzureichende Informationsbreite über Transportmechanismen in den untersuchten bzw. noch nicht untersuchten Geweben zurückzuführen. Es ist daher auch noch zu früh über dauerhafte, toxische, geschweige denn therapeutische Wirkungen von Ethanol auf Aminosäurebasis Aufschluss zu bekommen.

## 5. Literaturverzeichnis

1)

E.L. Abel, R.J. Sokol: *A revised estimate of the economic impact of fetal alcohol syndrome*, in M. Galanter: *Recent Developments in Alcoholism*, 9:117-25, 1991

2)

S.A. Adibi: *Interrelationships between level of amino acids in plasma and tissues during starvation*. *American Journal of Physiology*, 221:829-38, 1971

3)

S.A. Adibi, T.A. Modesto, E.L. Morse: *Amino acid levels in plasma, liver, and skeletal muscle during protein deprivation*. *American Journal of Physiology*, 225:408-14, 1973

4)

A.M. Allen, P.S. Oates: *Measuring total plasma amino acid concentrations as a test of exocrine pancreatic function*. *Gut*, 33:392-96, 1992

5)

B.M. Alutra, B.T. Alutra: *Microvascular and vascular smooth muscle actions of ethanol, acetaldehyde and acetate*. *Federation Proceedings*, 41:2447-51, 1982

6)

B.T. Alutra: *Cardiovascular effects of alcohol and alcoholism*. *Federation Proceedings*, 41:2437-77, 1982

7)

O.I. Aruoma, M.J. Laughton, B. Halliwell: *Carnosine, homocarnosine and anserine: could they act as antioxidants in vivo?*, *Biochemical Journal*, 264(5):863-69, 1989

8)

G. Banos, P.M. Daniel, S.R. Moorhouse: *The influx of amino acids into the heart of the rat*. *Journal of Physiology (London)*, 280:471-86, 1978

**9)**

R.E. Barry, A.J.K. Williams: *Metabolism of ethanol and its consequences for the liver and gastrointestinal tract*. Digestive Diseases, 6:194-202, 1988

**10)**

D. Bender: *Amino acid metabolism*, 1st edition, Wiley London, 1975,

**11)**

M.S. Berry, V.W. Pentreath: *The neurophysiology of alcohol*, in M.Sander: *Psychopharmacology of Alcohol*, 1st edition, Raven Press New York, 1980,

**12)**

M.P. Billings, V. Preedy, E. Opara, C.T. Liu, E.A. Newsholme: *Acute ethanol administration and the metabolism of glutamine by skeletal muscle of the rat: implications for ethanol-induced reductions in protein synthesis*. Alcohol & Alcoholism, 27(6):613-18, 1992

**13)**

G.L. Blackburn: *Amino acids, metabolism and medical application*. JP Grant & VR Young, eds. Boston: John Wright-PSG, 1983

**14)**

G.V. Blakenfeld, P. Jauch: *Amino acid specificity of the Na<sup>+</sup>/ alanine cotransporter in pancreatic acinar cells*. Biochimica et Biophysica Acta, 980:385-88, 1989

**15)**

A.A. Boldyrev, S.E. Sverin: *The histidin-containing dipeptides, carnosine and anserine: distribution, properties and biological significance*. Advances in Enzyme Regulation, 30:175-94, 1990

**16)**

L. Branchey, S. Shaw, C.S. Lieber: *Ethanol impairs tryptophan transport into the brain and depresses serotonin*. Life Science, 29:2751-57, 1981

**17)**

N.A. Brown, E.H. Goulding: *Ethanol embryotoxicity: direct effects on mammalian embryos in vitro*. Science, 206:573-75, 1979

**18)**

E.G. Browne: *Arabian Medicine*, The University Press Cambridge, 1921

**19)**

H.N. Christensen: *Organic ion transport during seven decades. The amino acids [Review]*. Biochimica et Biophysica Acta, 779:255-69, 1984

**20)**

H.N. Christensen, M.E. Handlogten: *Role of system "Gly" in glycine transport in monolayer cultures of liver cells*. Biochem. Biophys. Res. Commun, 98:102-7, 1981

**21)**

S. Clayman, P.G. Scholefield: *The uptake of amino acids by mouse pancreas in vitro*. Biochimica et Biophysica Acta, 73:277-89, 1969

**22)**

D.W. Crabb, W.F. Bosron, T.-K. Li: *Ethanol metabolism*. Pharmacological Therapy, 34:59-73, 1987

**23)**

A.K.Datta, X.Shi, K.S.Kasprzak: *Effect of carnosine, homocarnosine and anserine on hydroxylation of the guanine moiety in 2'-deoxyguanosine, DNA and nucleohistone with hydrogen peroxide in the presence of nickel(II)*. Carcinogenesis, 14(3):417-22, 1993

**24)**

K.H. Deturck, W.H. Vogel: *Effects of acute ethanol on plasma and brain catecholamine levels in stressed and unstressed rats: evidence for an ethanol-stress interaction*. Journal of Pharmacology and experimental therapy, 223:348-56, 1982

**25)**

S. Domschke, G. Heptner, S. Kolb, D. Sailer, M.U. Schneider, W. Domschke: *Decrease in plasma amino acid level after secretin and pancreozymin as an indicator of exocrine pancreatic function.* Gastroenterology, 90:1031-8, 1986

**26)**

D.S. Dorow, L. Devereux, E. Dietzsch, T. De Kretser: *Identification of a new family of human epithelial protein kinases containing two leucine/isoleucine-zipper domains.* European Journal of Biochemistry, 213(2): 701-10, 1993

**27)**

A. Dunger, A. Sjöholm, D. Eizirik: *Amino acids and human amniotic fluid increase DNA biosynthesis in pancreatic islets of adult mouse, but this effect is lost following exposure to streptozotocin.* Pancreas, 5(6):639-46, 1990

**28)**

G. Eisenhofer: *Effects of ethanol on plasma catecholamines and norepinephrine clearance.* Clinical Pharmacology and Therapeutics, 34:143-47, 1983

**29)**

T. Elbert, B. Rockstroh: *Psychopharmakologie*, 1. Auflage, Springer-Verlag New York, 1990

**30)**

F.W. Ellis: *Effect of ethanol on plasma corticosterone levels.* Journal of Pharmacology and Experimental Therapy, 153:121-27, 1966

**31)**

L.J. Elsas, F.B. Wheeler, D.J. Danner and R.L. DeHaan: *Amino acid transport by aggregates of cultured chicken heart cells: effect of insulin action.* Journal of Biology and Chemistry, 250:9381-90, 1975

**32)**

T. Eriksson, A. Carlsson: *Adrenergic influence on rat plasma concentrations of tyrosine and tryptophan*. *Ibid*, 30:1465-72, 1982

**33)**

T. Eriksson, T. Magnusson, A. Carlsson, M. Hagman, R. Jagenburg: *Decrease in plasma amino acids in man after an acute dose of ethanol*. *Journal of Studies on Alcohol*, 44:215-21, 1983

**34)**

o T. Eriksson, A. Carlsson, T. Magnusson: *Effect of hypophysectomy, adrenalectomy and (-)-propranolol on ethanol induced decrease in plasma amino acids*. *Naunyn Schmiedeberg's Archiv of Pharmacology*, 317:214-18, 1981

**35)**

C.B. Ernhart: *Alcohol teratogenicity in the human: a detailed assessment of specificity, critical period and threshold*. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 156:33-39, 1987

**36)**

D.A. Fitts, R. G. Hoon: *Ethanol-induced changes in plasma proteins, angiotensin II, and salt appetite in rats*. *Behavioral Neuroscience*, 107(2):339-45, 1993

**37)**

T.D. Foley and D.E. Rhoads: *Effects of ethanol on Na<sup>+</sup>-dependent amino acid uptake: dependence on rat age and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity*. *Brain Research*, 593:39-44, 1992

**38)**

O.A. Forsander, A.R. Poso: *Hepatic carbohydrate metabolism in rats bred for alcohol preference*. *Biochemical Pharmacology*, 37:2209-13, 1988



**39)**

W. Forth, D. Henschler, W. Rummel: *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 5. Auflage, Wissenschaftsverlag Mannheim, 1990

**40)**

W.H. Ganntt: *Effects of alcohol on the sexual reflexes of normal and neurotic male dogs*. *Psychosomatic Medicine*, 14:147-81, 1952

**41)**

W. Gevers: *Protein metabolism of the heart*. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*, 16(1):3-32, 1984

**42)**

L.S. Goudman and A. Gilman: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 7th edition, Mac Millan Publishing Company, 1985

**43)**

V. Grazioli, E. Casari, M. Murone, P.A. Bonini: *High-performance liquid chromatographic method for measuring hydroxylysine, glycosides and their ratio in urine as a possible marker of human bone collagen breakdown*. *Journal of Chromatography*, 615(1):59-66, 1993

**44)**

S.S Greenburg, J. Xie, Y. Wang, J. Kolls, J. Shellito, S. Nelson, W.R. Summer: *Ethanol relaxes pulmonary artery by release of prostaglandin and nitric oxide*. *Alcohol*, 10:21-29, 1993

**45)**

A.J. Greenspon, S.F. Schaal: *The "Holiday Heart": electrophysiologic studies of alcohol effects in alcoholics*. *Annals of Internal Medicine*, 98:135-39, 1983

**46)**

C.V. Greenway, R.D. Stark: *Hepatitis vascular bed*. *Physiology Review*, 51: 23-30, 1971

**47)**

K.L. Gross, W.J. Hartman, A. Ronnenberg, R.L. Prior: *Arginine-deficient diets alter plasma and tissue amino acids in young and aged rats*. Journal of Nutrition, 121:1591-99, 1991

**48)**

G.G. Guidotti and A.F. Borghetti: *The regulation of amino acid transport in animal cells*. Biochimica et Biophysica Acta, 515:329-66, 1978

**49)**

G.G. Guidotti, R. Franchi-Gazzola, G.C. Gazzola and P. Ronchi: *Regulation of amino acid transport in chick embryo heart cells. Intravenous site and mechanism of insulin action*. Biochimica et Biophysica Acta, 356:219-30, 1974

**50)**

L.Gullo, R. Pezzilli, L. Barbara: *Effect of somatostatin on pancreatic amino acid uptake*. Pancreas, 38:A599, 1988

**51)**

M. Hagman, T. Eriksson: *Development of tolerance to the plasma amino acid-decreasing effect of ethanol in the rat*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 43:625-29, 1991

**52)**

M. Hagman, T. Erikson, K.E. Kitson: *Similar effects of ethanol and tert-butanol on amino acid concentrations in rat serum and liver*. Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 12(2):299-303, 1993

**53)**

M. Hagman, R. Jagenburg: *Effect of 4-methylpyrazole on ethanol-induced decrease in rat plasma amino acids*. Biochemical Pharmacology, 38:105-08, 1989

**54)**

M. Hagman, T. Eriksson: *Dose-dependent decrease in rat plasma amino acids after acute administration of ethanol*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 42:869-70, 1990

**55)**

G. Hait, J. Kypson and R. Massih: *Amino acid incorporation into myocardium: effect of insulin, glucagon and dibutyryl 3',5'-AMP*. American Journal of Physiology, 222(2):404-8, 1972

**56)**

H.-M. Hakkinen, E. Kulonen: *Effect of ethanol administration on free proline and glutamate in the intact rat liver*. Biochemical Pharmacology, 29:1435-39, 1980

**57)**

T.A. Hare, N.V. Bala Manyam: *Rapid and sensitive ion-exchange fluorometric measurement of GABA in physiological fluids*. Analytic Biochemistry, 101:349-55, 1980

**58)**

L.I. Harrison and H.N. Christensen: *Stimulation of differential effects on rates in membrane transport*. Journal of Theoretical Biology, 49:439-59, 1975

**59)**

G.H. Hartung: *Effect of alcohol intake on high-density lipoprotein cholesterol levels in runners and inactive men*. Journal of the American Medical Association, 249:747-50, 1983

**60)**

K. Hatake, I. Wakabayashi and S. Hishida: *Mechanism of inhibitory action of ethanol on endothelium-dependent relaxation in rat aorta*. European Journal of Pharmacology, 238:441-44, 1993

**61)**

D. Henschler: *Wichtige Gifte und Vergiftungen*, in W. Forth, D. Henschler, W. Rummel: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 5.Auflage, Wissenschaftsverlag Mannheim, 1990

**62)**

K.M. Herrmann: *Amino acids, biosynthesis and genetic regulation*, 1st edition, Addison-Wesley Publishing Corporation, 1983

**63)**

R.J. Huxtable: *Commentary on "Taurine and the Heart"*. Biochemical Society Transaction, 19(2):167-8, 1991

**64)**

R. Huxtable: *Adrenergic stimulation of taurine by the heart*. Science, 198:409-11, 1977

**65)**

R. Huxtable: *Elevation of taurine in human congestive heart failure*. Life Science, 14:1353-54, 1974

**66)**

R. Imler, G.A. Vidavar: *Anion effects on glycine entry into pigeon red blood cells*. Biochimica and Biophysica Acta, 288:153-65, 1972

**67)**

V.P. Jauhonen: *Effect of acute alcohol load on plasma immunoreactive insulin and glucagon*. Hormone and Metabolic research, 10:214-19, 1978

**68)**

H. Joachm: *Das älteste Buch über Heilkunde*, Georg Reimer-Verlag, 1890

**69)**

S. Johnson: *Immune deficiency in fetal alcohol syndrome*. Pediatric Research, 15:908-11, 1985

**70)**

T. Kubo, M. Amano: *Beta-alanine and Taurine microinjected into the rat caudal ventrolateral medulla increase blood pressure*. Journal of Clinical & Experimental Hypertension, 15(3):585-97, 1993

**71)**

P. Kamoun: *Valine as a precursor of propionyl-CoA*. Trends in Biochemical Sciences, 17(5):175-76, 1992

**72)**

J.M. Khanna, K.O. Lindros, Y. Israel, H. Oregg: *In vivo metabolism of ethanol at high and low concentrations*. Alcohol and Aldehyde Metabolising Systems, 3:325-34, 1977

**73)**

M.S. Kilberg: *Amino acid transport in isolated rat hepatocytes* [Review]. Journal of Membrane Biology, 69:1-12, 1982

**74)**

M.S. Kilberg and O.W. Neuhaus: *Hormonal regulation of hepatic amino acid transport*. Journal of Supramoleculare Structure, 6:191-204, 1977

**75)**

G.I. Klingman, Mc.C. Goodall: *Urinary epinephrine and levarterenol excretion during acute sublethal alcohol intoxication in dogs*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapy, 121:313-18, 1957

**76)**

W.E. Klunk, R.J. Mc Clure, J.W. Pettegrew: *Possible roles of L-phosphoserine in the pathogenesis of Alzheimer's disease*. Molecular & Chemical Neuropathology, 15(1):51-73, 1991

**77)**

M.A. Korsten and C. S. Lieber: *Alcoholism: Social and Medical Dimensions*, in " *The Molecular Pathology of Alcoholism*" edited by T. Norman Palmes, pp 1-59

**78)**

T. Kubo, M. Amano: *Beta-alanine and taurine microinjected into the rat caudal ventrolateral medulla increase blood pressure*. Journal of Clinical & Experimental Hypertension, 15(3):585-97, 1993

**79)**

T. Küttler: *Pharmakologie und Toxikologie*, 14.Auflage, Jungjohann-Verlag Stuttgart, 1991

**80)**

G. Kuschinsky, H. Lüllmann: *Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie*, 1. Auflage, Georg Thieme-Verlag Stuttgart, 1974

**81)**

E. Kvist, K.E. Sjolín, J. Iversen, K. Nyholm: *Urinary excretion patterns of pseudourine and beta-aminoisobutyric acid in patients with tumors of the urinary bladder*. Scandinavian Journal of Urology & Nephrology, 21(1):45-53, 1993

**82)**

A. Le Cam and P. Freychet: *Effect of insulin on amino acid transport in isolated rat hepatocytes*. Diabetologia, 15:117-23, 1977

**83)**

N.M. Lee, C.E. Becker: *The Alcohols*, in B.G.Katzung: *Basic & Clinic Pharmacology*, 5th edition, Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut, 1992

**84)**

A. Lehmann: *Relation between release of taurine and phosphoethanolamine and osmoregulation in experimental epilepsy*. Epilepsy Research - Supplement,8:203-10, 1992

**85)**

A.L. Leninger, D.L. Nelson, M.C. Michael: *Principles of Biochemistry*, 2nd edition, Worth publishers New York, 1993

**86)**

M.A. Leo, C.S. Lieber: *Hepatic vitamin A depletion in alcoholic liver injury*. The New England Journal of Medicine, 307:597-601, 1982

**87)**

J.M. Littleton: *Alcohol and the central nervous system*, in " *The Molecular Pathology of Alcoholism*" edited by T. Norman Palmes, pp 238-53

**88)**

O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr: *Protein measurement with the folin phenol reagent*. Journal of Biology and Chemistry, 193:265-75, 1951

**89)**

G.E. Mann, S. Peran: *Basolateral amino acid transport systems in the perfused exocrine pancreas: sodium-dependency and kinetic interactions between influx and efflux mechanisms*. Biochimica et Biophysica Acta, 858(2):263-74, 1986

**90)**

B.J. Maroni, R.W. Haesemeyer, M.H. Kutner: *Kinetics of system A amino acid uptake by muscle: effects of insulin and acute uremia*. American Journal of Physiology, 258:F1304-10, 1990

**91)**

R.H. Matthews and R. Zand: *Basis for substrate preference of amino acid transport system L over amino acid transport system A*. Biochemistry, 16:3820-24, 1977

**92)**

W.D. McCumbee, E.I. Mangiarua: *Effects of cyclic adenosine 3',5'-mono-phosphate on amino acid transport and incorporation into protein in the rat aorta*. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 69:1001-8, 1990

**93)**

L. Milakofsky, J.M. Miller, W.H. Vogel: *Effects of acute ethanol administration on rat plasma amino acids and related compounds*. *Biochemical Pharmacology*, 35(21):3885-88, 1986

**94)**

L. Milakofsky, T.A. Hare, J.M. Miller and W.H. Vogel: *Comparison of amino acid levels in rat blood obtained by catheterization and decapitation*. *Life Sciences*, 34:1333-40, 1984

**95)**

L.L. Miller: *The role of the liver and the non-hepatic tissues in the regulation of free amino acid levels in the blood*, in J.T. Holder: *"Amino acidpools"*, Elsevier Amsterdam, 1962.

**96)**

M.Y. Morgan, J.P. Milsom, S. Sherlock: *Ratio of plasma alpha-amino-n-butyric acid to leucine as an empirical marker of alcoholism: diagnostic value*. *Science*, 197:1183-85, 1977

**97)**

H.E. Morgan, B. Chua, C.J. Beinlich: *Regulation of protein degradation in heart*. in K. Wildenthal: *"Degradative processes in heart and skeletal muscle"*, Elsevier New York, 1980

**98)**

L. Moro, C. Gazzarani et al.: *Biochemical markers for detecting bone metastases in patients with breast cancer*. *Clinical Chemistry*, 39(1):131-34, 1993

**99)**

C.N. Murty, R. Hornseth, E. Verney, H. Sidransky: *Ethanol-induced stimulation of hepatic ornithine decarboxylase activity in the rat*. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 6:80-88, 1982

**100)**



K. Nakamori: *Quantitative evaluation of the effectiveness of taurine in protecting the ocular surface against oxidant*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 41(2):335-8, 1993

**101)**

F.S. Nkhumeleni, E.J. Raubenheimer et al.: *Amino acid composition of dentine in permanent human teeth*. Archives of Oral Biology, 37(2):157-58, 1992

**102)**

J.J. O'Drowd, M.T. Ciarns, M. Trainor et al.: *Analysis of carnosine, homocarnosine, and other histidyl derivates in rat brain*. Journal of Neurochemistry, 55(2):446-52, 1990

**103)**

Y. Okamoto, T. Murayama, M. Ogata: *Effects of acute and chronic ethanol administration on amino acid metabolism in rabbit brain and blood*. Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica, 33(1):111-21, 1979

**104)**

M. Oshita, Y. Takei, S. Kawano: *Roles Of Endothelin-1 and nitric oxide in the mechanism for ethanol-induced vasoconstriction in rat liver*. Journal of Clinical Investigation, 91:1337-42, 1993

**105)**

E. Ozeki, T. Miyazu, S. Kimura, Y. Imanishi: *Cyclic hexapeptides bearing carboxyl groups: interaction with metal ions and lipid membrane*. International Journal of Peptide & Proteine Research, 34(2):97-103, 1989

**106)**

E.S. Perman: *The effect of ethyl alcohol on the secretion from the adrenal medulla in man*. Acta Physiologica Scandinavia, 44:241-47, 1958

**107)**

E.S. Perman: *The effect of ethyl alcohol on the secretion from the adrenal medulla of the cat.* Acta Physiologica Scandinavia, 48:323-28, 1960

**108)**

M.A. Petit, I. Barral-Alix: *Effect of ethanol dose on amino acid and urea concentrations in the fed rat liver in vivo.* Biochemical Pharmacology, 28:2591-96, 1979

**109)**

C. Pico, A. Pons, A. Palou: *A significant pool of amino acids is absorbed on blood cell membranes.* Bioscience Reports, 11(4):223-30, 1991

**110)**

L. A. Pohorecky, B. Newman, J. Sun, W.H. Bailey: *Acute and chronic ethanol ingestion and serotonin metabolism in rat brain.* Journal of Pharmacology and Experimental Therapy, 204:424-26, 1978

**111)**

L.A. Pohorecky and J. Brick: *Pharmacology of ethanol.* Pharmacology and Therapeutics, 36:335-427, 1988

**112)**

D.Jr. Porte, A.L. Graber, T. Kuzuya, R.H. Williams: *The effect of epinephrine on immunoreactive insulin levels in man.* Journal of Clinical Investigation, 45:228-36, 1966

**113)**

V.R. Preedy, J.W. Keating, T.J. Peters: *The acute effects of ethanol and acetaldehyde on rates of protein synthesis in type I and type II fibre-rich skeletal muscles of the rat.* Alcohol & Alcoholism, 27(3): 241-51, 1992

**114)**

M. Raghaven, U. Lindberg, C. Schutt: *The use of alternative substrates in the characterization of actin-methylating and carnosine-methylating enzymes.* European Journal of Biochemistry, 210(1):311-18, 1992

**115)**

D.E. Rannels, R. Kao, H.E. Morgan: *Effect of insulin on protein turnover in heart muscle.* Journal of Biology and Chemistry, 250: 1694-1701, 1975

**116)**

A.K. Rawat: *Effects of ethanol infusion on the redox state and metabolite levels in rat liver in vivo.* European Journal of Biochemistry, 6:585-92, 1968

**117)**

O.S. Ray: *Drug, society and human behavior*, 3rd edition, Mosby, 1983

**118)**

K. Reiser, R.J. McCormick, R.B. Rucker: *Enzymatic and non-enzymatic cross-linking of collagen and elastin.* FASEB Journal, 6(7):2439-49, 1992

**119)**

J.M. Richie: *The aliphatic alcohols*, in L.S. Goudman and A. Gilman: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 7th edition, Mac Millan Publishing Company, 1985

**120)**

T.R. Riggs and K.J. Mc Kirahan: *Action of insulin on transport of L-alanine into rat diaphragm in vitro. Evidence that the hormone affects only one neutral amino acid transport system.* Journal of Biology and Chemistry, 248:6450-55, 1974

**121)**

E. Rubin: *Alcoholic myopathy in heart and skeletal muscles.* The New England Journal of Medicine, 301:28-33, 1979

**122)**

L. Sachs: *Statistische Methoden*, 6. Auflage, Springer-Verlag New York, 1988

**123)**

J. Sastre, J.H. Sweiry, K. Doolabh, J. Vina and G.E. Mann: *Significance of gamma-glutamyltranspeptidase in exocrine pancreatic amino acid transport*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1065:213-16, 1991

**124)**

R. Scharff, I.G. Wool: *Concentration of amino acids in rat muscle and plasma*. *Nature(London)*, 202:603-4, 1964

**125)**

H. Shamon, R. Jacob, R.S. Sherwin: *Epinephrine induced hypoaminoacidemia in normal and diabetic human subjects*. *Diabetes*, 29:875-81, 1980

**126)**

M.A. Shotwell, M.S. Kilberg, D.L. Oxender: *The regulation of neutral amino acid transport in mammalian cells*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 737:267-84, 1983

**127)**

F.L. Siegel, M.K. Roach, L.R. Pomeroy: *Plasma amino acid patterns in alcoholism: the effects of ethanol loading*. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 51:605-11, 1964

**128)**

W.W. Souba, D.A. Plumley, R.M. Salloum, E.M. Copeland III: *Effects of glucocorticoids on lung glutamine and alanine metabolism*. *Surgery*, 108:213-19, 1990

**129)**

R.T. Stanko, E.L. Morse, S.A. Adibi: *Prevention of effects of ethanol on amino acid concentration in plasma and tissues by hepatic lipotropic factors in rats*. *Gastroenterology*, 76(1):132-38, 1979

**130)**

D.J. Stott, S.G. Ball, G.C. Inglis, D.L. Davies: *Effects of a single moderate dose of alcohol on blood pressure, heart rate and associated metabolic and endocrine changes*. *Clinical Science*, 73:411-16, 1987

**131)**

D.R. Strombeck, D. Harrold, Q. R. Rogers: *Effects of catecholamines and ammonia on plasma and brain amino acids in dogs*. *American Journal of Physiology*, 247:E276-83, 1984

**132)**

L. Stryer: *Biochemistry*, 3rd edition, Freeman, 1988

**133)**

P.D. Suzdak and S.M. Paul: *Ethanol stimulates gaba receptor-mediated Cl<sup>-</sup> ion flux in vitro: possible relationship to the anxiolytic and intoxicating actions of alcohol*. *Psychopharmacology Bulletin*, 23(3):445-51, 1987

**134)**

J.H. Sweiry, M. Munoz, G.E. Mann: *Cis-inhibition and trans-stimulation of cationic amino acid transport in the perfused rat pancreas*. *American Journal of Physiology*, 261:C506-14, 1991

**135)**

M. Szczygiel, W. Barej: *Concentration of free amino acids in the blood and the liver of cattle, sheep and rabbits*. *Acta Physiologica Polonica*, 28(6):553-58, 1977

**136)**

A.B. Thiagarajan, I.N. Mefford, R.L. Eskay: *Single-dose ethanol administration activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: exploration of the mechanism of action*. *Neuroendocrinology*, 50:427-32, 1989

**137)**

K. Tomokuni, M. Ichiba, Y. Hirai: Urinary *N*-acetyl-beta-D-glucosamidase and beta-aminoisobutyric acid in workers occupationally exposed to metals such as chromium, nickel, and iron. *International Archives of Occupational & Environmental Health*, 65(1):19-21, 1993

**138)**

A.R. Tovar, J.K. Tews, N. Torres, D.C. Madsen, A.E. Harper: *Competition for transport of amino acids into rat heart: effect of competitors on protein synthesis and degradation*. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 41(9):925-33, 1992

**139)**

A.R. Tovar, J.K. Tews, N. Torres: *Neutral amino acid transport into rat skeletal muscle: competition, adaptive regulation and effects of insulin*. *Metabolism*, 40:410-19, 1991

**140)**

R.C. Turner, N.W. Oakley, J.D. Nabarro: *Changes in plasma insulin during ethanol-induced hypoglycemia*. *Metabolism*, 22:111-21, 1973

**141)**

T.B. Turner et al.: *Effects in man: chronic effects in relation to levels of alcohol consumption*. *John Hopkins Medical Journal*, 5:235-48, 273-96, 1977

**142)**

A. Urbano-Marquez, R. Estruch, F. Navarro-Lopez, J.M. Grau, L. Mont, E. Rubin: *The effect of alcoholism on skeletal and cardiac muscle*. *New England Journal of Medicine*, 320:409-15, 1989

**143)**

W.J. van Venrooij, C. Poort, M.F. Kramer, M.T. Jansen: *Relationship between extracellular amino acids and protein synthesis in vitro in the rat pancreas*. *European Journal of Biochemistry*, 30:427-33, 1972

**144)**

W. Willett: *Alcohol consumption and high-density lipoprotein cholesterol in marathon runners*. The New England Journal of Medicine, 303:1159-61, 1980

**145)**

G.T. Wilson: *Alcohol and human sexual behavior*. Behavior Research and Therapy, 15:239-52, 1977

**146)**

H. Yamamoto, T. Aikawa, H. Matsutaka: *Interorganal relationships of amino acid metabolism in fed rats*. American Journal of Physiology, 226:1428-33, 1974

**147)**

D.L. Yudilevich , G.E. Mann: *Unidirectional uptake of substrates at the blood side of secretory epithelia: stomach, salivary gland, pancreas*. Federation Proceedings, 41(4):3045-53, 1982

**148)**

B.Y. Zhu, N.E. Zhou, C.M. Kay, R.S. Hodges: *Packing and hydrophobicity effects on protein folding and stability: effects of beta-branched amino acids, valine and isoleucine, on the formation and stability of two-stranded alpha-helical coiled-coiled/leucine zippers*. Protein Science, 2(3):383-94, 1993