

Hintergrund

Zu den relevanten Forschungsschwerpunkten in der Geriatrie zählt der über den physiologischen Alterungsprozesse hinausgehende Muskelschwund, die sogenannte Sarkopenie. In einer eigenen tierexperimentellen Studie ist es uns im Rattenmodell gelungen, durch Hochfetternährung Sarkopenie zu induzieren. Dies lässt den Schluss zu, dass Sarkopenie durch Mechanismen der Lipotoxizität induziert wird und damit eine eigenständige Pathogenese für sarcopenic obesity postuliert werden kann. Vor diesem Hintergrund sollte nun eine verlässliche Methode zur Analyse von Fettsäuremustern etabliert werden, um damit eventuell pathogenetisch relevante Fettsäurespezies bzw. Biomarker der Sarkopenie identifizieren zu können.

Ziel

Etablierung einer gaschromatographische Methode für die Bestimmung von Fettsäureprofilen im Muskel. Vergleich der mit Hochfett ernährten Tiere und der Kontrolltiere hinsichtlich ihrer Fettsäureprofile zur Identifikation von potentiellen Biomarkern.

Methoden

Aus der vorangegangenen tierexperimentellen Arbeit (Bollheimer et al. 2012) lagen uns Muskelproben (M. quadriceps) von 21 Monate alten Sprague Dawley Ratten vor. Diese Ratten wurden randomisiert normal- oder Hochfett-ernährt. Der einzige Unterschied in der Ernährung war dabei der Fettgehalt (25 en% vs. 45 en%) bei identischen Proteingehalt.

Nach Zerkleinerung der vorliegenden Muskelproben erfolgte eine Aufreinigung mit Hilfe einer SPE-Säule und anschließend die Elution in die Untergruppen Cholesterinester, Phospholipide und Triglyceride. Zur Standardisierung erfolgte die Verwendung von internen Standards (C22 für Phospholipide, C 17 in unterschiedlichen Konzentration für Cholesterinester und Triglyceride). Die gewonnenen Untergruppen wurden hydrolysiert und zur Verbesserung der analytischen Auftrennung anschließend methyliert.

Zur Analyse wurde eine Gaschromatografie mit einer polaren BPX-70-Säule durchgeführt. Im Anschluss erfolgte die Identifikation der Inhaltsstoffe über ein Quadropol-Massenspektrometer.

Ergebnisse

Es konnte eine Methode zur Aufarbeitung von Muskelproben und Separierung der Fettsäuren in ihre Hauptgruppen etabliert werden. Die einzelnen Fettsäuremoleküle konnten in der Gaschromatographie vollständig voneinander getrennt werden, was eine parallele Identifikation der Lipidbestandteile ermöglichte. Bei dem Vergleich der Fettsäuregehalte zwischen hochfett- und normalernährten Tieren zeigte sich eine tendenziell höhere Konzentration von Triglyceriden (im Besonderen Hexadecansäure und 9-Oktadecansäure) bei hochfetternährten Tieren während bei der Phospholipid- und Cholinesterfraktion keine Differenzen nachzuweisen waren.

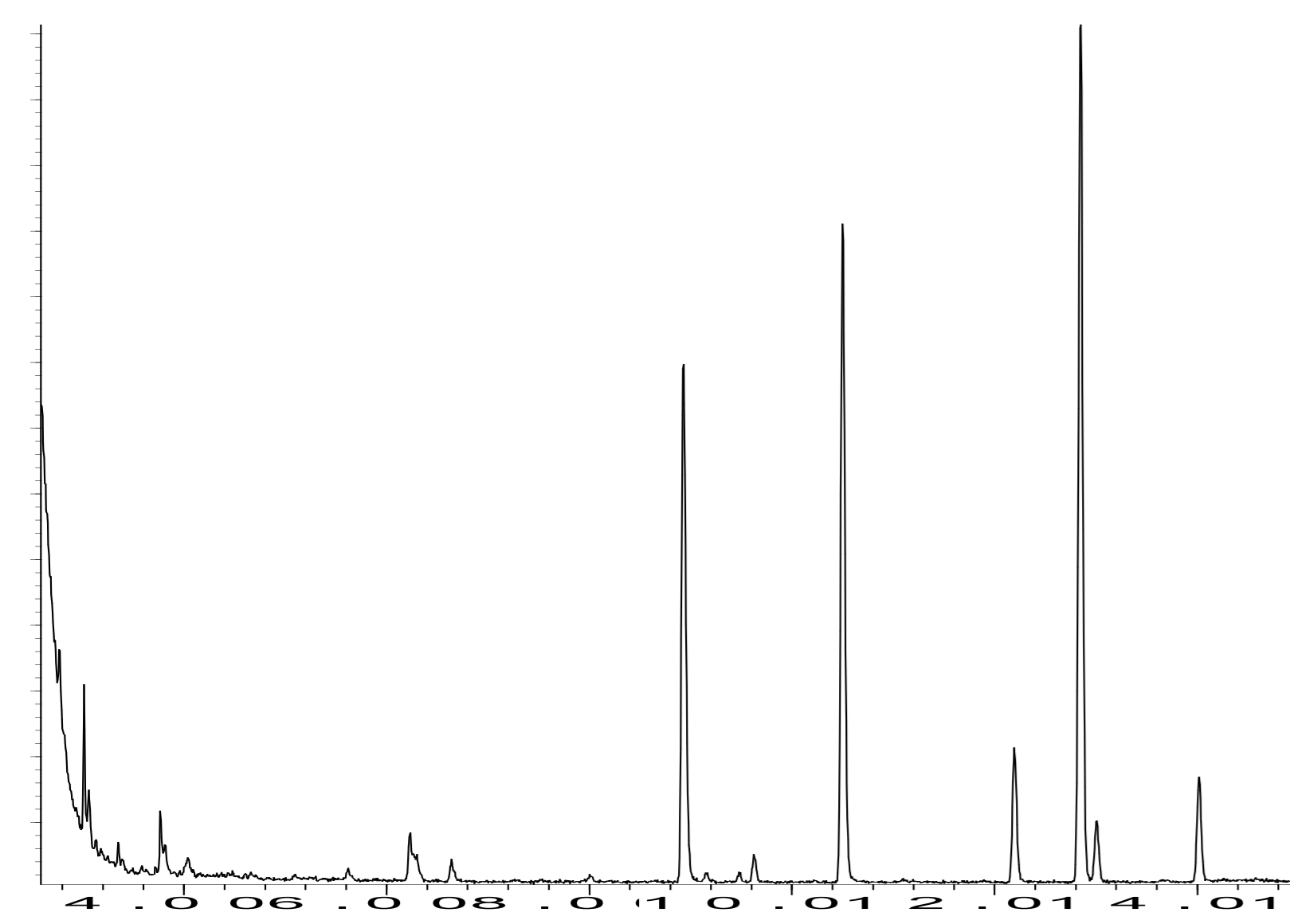


Abb 1: Erzieltes Chromatogramm nach Aufbereitung und Trennung in die Lipidklassen

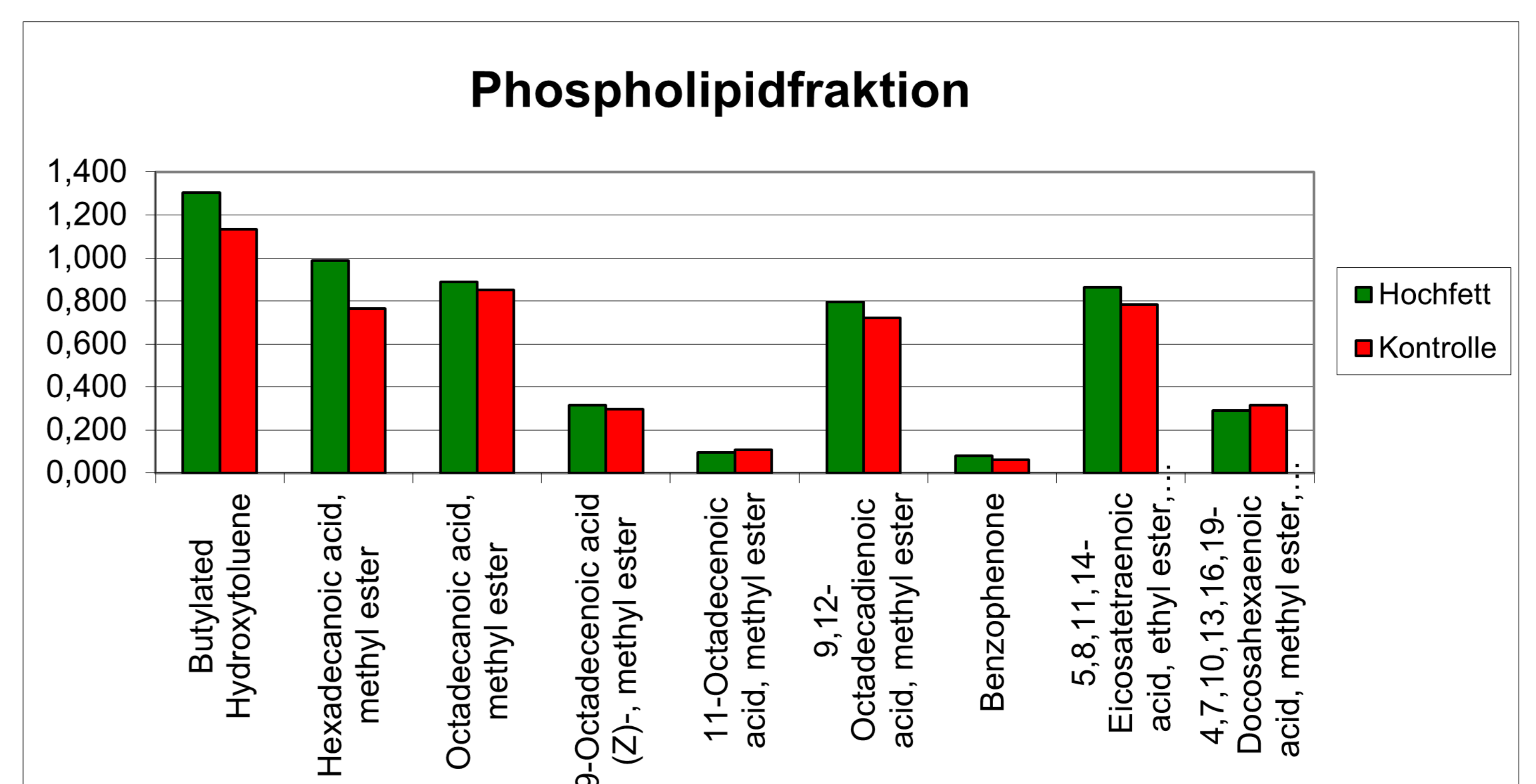


Abb.2: Peakfläche bezogen auf internen Standard bezüglich der Phospholipidfraktion

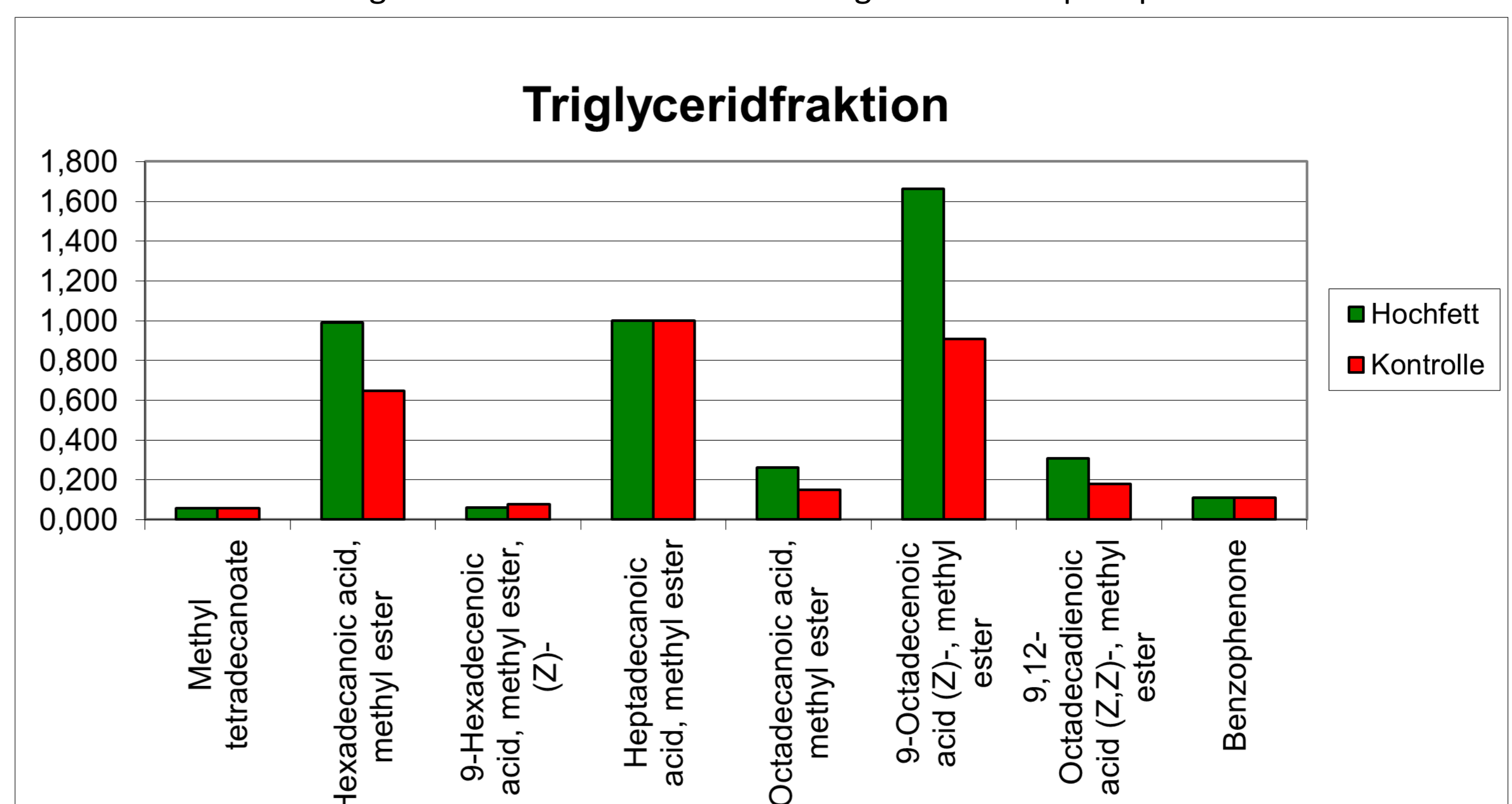


Abb.3: Peakfläche bezogen auf internen Standard bezüglich der Triglyceridfraktion

Schlussfolgerung

Die Neuetablierung dieser Methodik stellt einen Fortschritt zur weiteren Klärung des pathogenetischen Zusammenhanges zwischen Fehlernährung und Sarkopenie dar.

Durch weitere vergleichende Messungen von aufbereiteten Muskelproben von hochfett- und normalernährten Ratten soll die statistische Signifikanz des beobachteten Trends zu einem höheren Lipidgehalt bei hochfetternährten Tieren nachgewiesen werden.