

## **Können hohe Glutaminkonzentrationen die Funktionalität immunologischer Zellen nach intensiven Belastungen verbessern?**

H. Liesen (Projektleiter), M. Baum, A. Stork, M. Linnenbrock

Universität Paderborn  
Sportmedizinisches Institut

### **1 Problem**

Ausgangspunkt des Projektantrages war, dass intensive erschöpfende Ausdauerbelastungen, wie im Leistungssport üblich, eine erhöhte Infektionsrate mit sich bringen können (KÖNIG et al. 1997, PEDERSEN et al. 1998, NIEMAN et al. 1990, PETERS & BATEMAN 1983). Die Ursachen dafür werden kontrovers diskutiert und sind multikausal. Mehrere Autoren berichten von einer verminderten Funktionalität des Immunsystems während intensiver Trainingsphasen, ebenso von einem veränderten Funktionszustand der Monozyten (BAUM et al. 1994, CANNON et al. 1991).

Eine verminderte Leistungsfähigkeit des Immunsystems kann durch eine veränderte Synthesekapazität weißer Blutzellen für Zytokine bedingt sein.

Das führt in Abhängigkeit vom betroffenen Zytokin zu einer abgeschwächten Akute-Phase-Reaktion (IL-6, IL-1, TNF-a) oder einer verzögerten Aktivierung des spezifischen Immunsystems (Interferon- $\gamma$ , IL-2). Hierdurch könnten Infektionen länger und schwerer verlaufen. Eine beeinträchtigte Zytokinsynthese kann an einem unzureichenden Substratangebot, die für die Immunzellen erforderlich sind, liegen.

Die Aminosäure Glutamin ist eine derartige Substanz, die für bestimmte Immunzellen (Makrophagen und Lymphozyten) ein wichtiges Substrat darstellt.

Mononukleare Zellen weisen keinerlei Glutaminsynthese-Aktivität auf. Das bedeutet, dass Lymphozyten mit Glutamin versorgt werden müssen, um ihren metabolischen Aufgaben nachkommen zu können.

Primäres Ziel der geplanten Studie war der Frage nachzugehen, ob in vitro Glutaminzusätze unterschiedlicher Konzentration die Zytokinsynthese in Vollblutkulturen von Zellen, die nach erschöpfender Ausdauerbelastung gewonnen werden, beeinflussen. Da am ehesten ein Einfluss auf IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF-a und IFN- $\gamma$  zu erwarten war, standen die Zytokine im Mittelpunkt des Forschungsinteresses.

## 2 Methode

Zehn gesunde Probanden ( $23,9 \pm 1,79$  Jahre,  $1,77 \pm 0,09$  m,  $72,7 \pm 12,1$  kg) nahmen an der Studie teil.

Die Hauptuntersuchung bestand aus einer 1,5-stündigen erschöpfenden fahrradergometrischen Belastung mit 80-90 % der 4 mmol/l-Schwelle. Blutproben wurden durch venöse Punktion einer antekubitalen Vene vor, 30 Minuten nach und 24 Stunden nach der Belastung entnommen.

Während der Belastung konnten die Probanden ad libitum Mineralwasser trinken. Essen durften sie erst nach der Blutabnahme, die 30 Minuten nach der Belastung stattfand.

Leukozytenzahlen wurden mit einem Digitanacounter (Sysmex, Hamburg) ermittelt. Das Differentialblutbild wurde aus durchflusszytometrischen Daten und den physikalischen Eigenschaften der Zellen bestimmt. Zusätzlich erfolgte eine Kontrolle mittels Leucogate (Becton Dickinson, Heidelberg). Die Monozyteneigenschaften wurden über die Expression des CD14-Antigens definiert. Die in vitro Zytokinsynthese: innerhalb von zwei Stunden nach der Abnahme wurden die Blutproben in einem Vollblutassay kultiviert. Das Verfahren wurde von KIRCHNER et al. (1982) beschrieben.

Die Stimulierung der Zytokine erfolgte bei unterschiedlichen Glutaminkonzentrationen: 300 - 600 - 900 - 2000  $\mu$ M.

## 3 Ergebnisse

In vitro konnte kein signifikanter Einfluss unterschiedlicher Glutaminkonzentrationen auf die absolute Zytokinsynthese von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IFN- $\gamma$  festgestellt werden.

Nach dieser erschöpfenden Belastung (30 Minuten danach) wurde eine signifikante Leukozytose beobachtet, die im Wesentlichen durch eine Granulozytose und weniger durch eine Monozytose verursacht wurde. Zusätzlich kam es 30 Minuten nach der Belastung zu einer signifikanten Verminderung des prozentualen Anteils an Lymphozyten und NK-Zellen (Lymphozytensubpopulation).

Die Zytokinproduktion der Vollblutkulturen ergab 30 Minuten nach der Belastung eine signifikante Verminderung der SEB-stimulierten IFN- $\gamma$ -Produktion (bei allen Glutaminkonzentrationen), gefolgt von einem signifikanten Anstieg 24 Stunden später. Da IFN- $\gamma$  überwiegend von Helferzellen synthetisiert wird, ist es sinnvoll, den Quotienten IFN- $\gamma$  pro CD4<sup>+</sup> Zelle zu berechnen. Hier fand sich kein signifikanter Abfall des Quotienten 30

Minuten nach der Belastung, stattdessen ein signifikanter Anstieg von 30 Minuten bis 24 Stunden nach der Belastung (bei allen Glutaminkonzentrationen).

Für die überwiegend von Monozyten produzierten Zellen Zytokine IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  wurde ein entsprechender Quotient ebenfalls berechnet. Hier fanden sich zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede.

Bei der hier gewählten Belastung kam es zu einer leichten Veränderung des Plasma-Glutaminspiegels. Ein Abfall von 5 % (nicht signifikant) konnte 30 Minuten nach der Belastung beobachtet werden.

#### **4 Diskussion**

In vitro Studien, die den Einfluss von Glutamin auf Lymphozytenproliferation untersuchten, konnten zeigen, dass optimale Proliferationen bei Glutaminkonzentrationen zwischen 100 und 600  $\mu$ M stattfinden. Erst bei Glutaminkonzentrationen von weniger als 100  $\mu$ M kommt es zu einer beeinträchtigten funktionellen Immunantwort. In der vom Sportmedizinischen Institut durchgeführten Studie wurden in vitro Konzentrationen von 300 bis 2000  $\mu$ M gewählt, die allerdings keinerlei Auswirkungen auf die in vitro Zytokinsynthese hatten. Eine höhere Glutaminkonzentration führt somit zu keiner weiteren Stimulierung der Zytokinsynthese.

Die Syntheserate von IFN- $\gamma$  war im Vollblut 30 Minuten nach der Belastung signifikant reduziert. Nach 24 Stunden war die Syntheserate wieder bis auf den Ausgangswert angestiegen. Die Veränderungen der IFN- $\gamma$ -Produktion nach intensiver Belastung sind möglicherweise ein wesentlicher Mechanismus, der die Funktionslage des Immunsystems beeinflusst (LIESEN et al. 1997, 16f). Einschränkend muss bei dieser Studie hinzugefügt werden, dass die IFN- $\gamma$  pro CD4<sup>+</sup> Zelle 30 Minuten nach der Belastung nicht signifikant erniedrigt war, während in der Nachbelastungsphase (24 Stunden später) die IFN- $\gamma$ -Synthese pro CD4<sup>+</sup> Zelle signifikant anstieg.

Die Synthese von IL-6, IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  wurde absolut nicht signifikant durch die Belastung beeinflusst, ebenso zeigte sich die Synthese pro Monozyt bei TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  nicht auffällig verändert. In anderen Untersuchungen kam es zu einem signifikanten Abfall des Quotienten TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  pro Monozyt (BAUM 1997), während andere Autoren ebenfalls eine unveränderte Syntheserate beobachten (HAAHR et al. 1991). Diese widersprüchlichen Ergebnisse hängen möglicherweise mit Umfang und Intensität der durchgeführten Belastung zusammen.

In dieser Studie sank die Plasma-Glutaminkonzentration um 5 %. Im Vergleich zu anderen Untersuchungen ist das eher ein geringfügiger Abfall. Der stärkste Abfall der Plasma-

Glutaminkonzentration lässt sich nach starken Verbrennungen (> 30 % der Gesamtkörperoberfläche) beobachten (von 490 auf 200  $\mu\text{M}$ ).

Ein Abfall der Plasma-Glutaminkonzentration trifft nicht für alle Arten sportlicher Belastung zu. Bei kurzen, intensiven Belastungen kommt es zu einem signifikanten Anstieg des Plasma-Glutaminspiegels (CASTELL et al. 1998)

Es ist eher unwahrscheinlich, dass ein Glutaminabfall im Bereich von 5 % bereits Auswirkungen auf funktionelle immunologische Parameter hat.

In Situationen, in denen die Plasma-Glutaminkonzentration stärker abfällt, kann die Bereitstellung von Glutamin von Vorteil für die Immunzellen sein. Wenige Studien haben bisher allerdings untersucht, ob eine Glutaminsupplementation bei Ausdauersportlern zur Vermeidung eines Plasma-Glutaminabfalls nach der Belastung auch einen Effekt auf immunologische Parameter hat.

In vitro ist Glutamin unzweifelhaft wichtig für die Fähigkeit der Zellen, bestimmte Zytokine zu bilden. Weitaus fraglicher ist, ob ein Abfall der Serum/Plasma-Glutaminkonzentration in Verbindung mit sportlicher Belastung und anderen stressigen Belastungen tatsächlich auch eine reduzierte Immunfunktion mit sich zieht (ROHDE et al. 1998).

Die Zytokine IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IFN- $\gamma$  zeigten in vitro bei allen vier Glutaminkonzentrationen einen ähnlichen Verlauf (vor der Belastung, 30 Minuten nach der Belastung und 24 Stunden nach der Belastung). Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Zytokinsynthese unter dem Einfluss unterschiedlicher Glutaminkonzentrationen ausmachen.

### ***Schlussfolgerung***

Die erschöpfende, fahrradergometrische Belastung, wie sie im Rahmen dieser Studie durchgeführt wurde, führte bei den Probanden zu immunologischen Veränderungen wie sie bereits in anderen Studien beobachtet wurden. In vitro ergaben sich keinerlei signifikante Unterschiede der Zytokinsyntheseraten (IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) unter dem Einfluss verschiedener Glutaminkonzentrationen (300, 600, 900, 2000  $\mu\text{M}$ ).

30 Minuten nach der Belastung kam es zu einem leichten Absinken des Plasma-Glutaminspiegels von fünf Prozent. Der Abfall war jedoch nicht signifikant und es ist nicht anzunehmen, dass ein derart geringer Abfall der Glutaminkonzentration bereits einen Einfluss auf immunologische Parameter hat.

## 5 Literatur

- BAUM, M.; LIESEN, H.; ENNEPER, J.: Leucocytes, lymphocytes, activation parameters and cell adhesion molecules in middle-distance runners under different training conditions. *Int. J. Sports Med.* 15 (1994), 122-126
- BAUM, M.; MÜLLER-STEINHARD; LIESEN, H.; KIRCHNER, H.: Moderate and exhaustive endurance exercise influences the interferon- $\gamma$  levels in whole-blood culture supernatants. *Eur. J. Appl. Physiol.* 76 (1997), 165-169
- CALDER, P.C.; YAQOUB, P.: Glutamine and the immune system. *Amino Acids* 17 (1999), 227-241
- CANNON, J.G.; MEYDANI, S.N.; FIELDING, R.A. et al.: Acute phase response in exercise II. Associations between vitamin E, cytokines und muscle proteolysis. *Am. J. Physiol.* 260 (1991), R1235-R1240
- CASTELL, L.M.; NEWSHOLME E.A.: Glutamine and the effects of exhaustive exercise upon the immune response. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 76 (1998), 524-537
- CASTELL, L.M.; POORTMANS, J.R.; NEWSHOLME, E.A.: Does glutamine have a role in reducing infections in athletes. *Eur. J. Appl. and Occu. Physiol.* 73 (1996) 5, 488-490
- HAAHR, P.M.; PEDERSEN, B.K.; FOMSGAARD, A.; TVEDE, N.; DIAMANT, M.; KLARLUND, K.; HALKJAER-KRISTENSEN, J.; BENDTZEN, K.: Effect of physical exercise on in vitro production of interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, interleukin-2 and interferon gamma. *Int. J. Sports Med.* 12 (1991), 223-227
- KEAST, D.; ARSTEIN, D.; HARPER, W.; FRY, R.W.; MORTON, A.R.: Depression of plasma glutamine concentration after exercise stress and its possible influence on the immune system. *Med. J. Aust.* 162 (1995), 15-18
- KIRCHNER, H.; KLEINICKE, C.; DIGEL, W.: A whole blood technique for testing production of human interferin by leucocytes. *J. Immun. Methodes* 48 (1982), 213-219
- KÖNIG, D.; BERG, A.; WEINSTOCK, C.; KEUL, J.; NORTHOFF, H.: Essential fatty acids, immune function, and exercise. *Ex. Immun. Rev.* 3 (1997), 1-31
- LIESEN, H.; BAUM, M.: Sport und Immunsystem. Stuttgart 1997
- NIEMAN, D.C.; JOHANSEN, L.M.; LEE, J.W.; ARABATZIS, K.: Infectious episodes in runners before and after the L.A. Marathon. *J. Sports Med.* 11 (1990), 467-473
- PEDERSEN, B.K.; OSTROWSKI, K.; ROHDE, T.; BRUNSGAARD, H.: Nutrition, exercise and the immune system. *Proc. Nutr. Soc.* 57 (1998), 582-584
- ROHDE, T.; KRYZWKOWSKI, K.; PEDERSEN, B.K.: Glutamine, Exercise, and the Immune System - Is there a Link? *Exercise Immunology Review* 4 (1998), 49-63
- WALSH, N.P.; BLANNIN, A.K.; ROBSON, P.J.; GLEESON, M.: Glutamine, exercise and immune function. Links and possible mechanisms. *Sports Med.* 26 (1998) 3, 177-191
- WELLS, S.M.; KEW, S. et al.: Dietary Glutamine Enhances Cytokine Production by Murine Macrophages. *Nutrition* 15 (1999), 881-884

