

## SAUERSTOFFVERBRAUCH UND COENZYM A-AKTIVITÄT NACH DINITROPHENOL UND ISOPROTERENOL BEI RATTE

O. STRUBELT

Pharmakologisches Institut, Universität Erlangen-Nürnberg, Germany

(Received 16 January 1964; accepted 26 February 1964)

**Abstract**—Over several hours of an increased rate of oxygen consumption following the injection of 20mg/kg of dinitrophenol or isoproterenol the CoA activity in the liver, kidneys, heart and muscles remained unaltered, and, in the brain, even decreased. Only when the oxygen consumption had reverted to normal was there a slight rise in the CoA content of some organs. This is probably due to the greater combustion of fat at this stage; rats fed on fats for two days also showed an increased CoA level in the liver and heart.

DAS COENZYMA (CoA) nimmt als Coferment der Acylierung an zahlreichen Stoffwechselreaktionen teil, die zur Synthese und zum Abbau der Fettsäuren, Lipoide, Sterine, Steroide, zahlreicher Aminosäuren sowie zur Endoxydation aller Nahrungsstoffe im Zitronensäurezyklus notwendig sind. Jede Steigerung assimilatorischer oder dissimilatorischer Prozesse bedingt eine vermehrte Beanspruchung dieses Coferments, die eine vermehrte Neubildung erfordern könnte. So ist der CoA-Gehalt in der Hefe nicht konstant, sondern von der Stoffwechselintensität abhängig.<sup>1</sup> Bei thyreoidektomierten Ratten fanden Tabachnik<sup>2</sup> und Mitarb. nach Gabe von Thyroxin einen Anstieg des CoA-Spiegels mehrerer Organe. Gleichzeitige vergleichende Untersuchungen zwischen Stoffwechselintensität und CoA-Aktivität im tierischen Organismus liegen jedoch bisher nicht vor. Wir haben uns deshalb die Frage gestellt, ob es bei einer durch Dinitrophenol (DNP) oder Isoproterenol verursachten Steigerung des Sauerstoffverbrauchs auch zu einem Anstieg der CoA-Aktivitäten des tierischen Organismus kommt.

### METHODIK

Die Versuche erfolgten an ausgewachsenen weiblichen Wistaratten im Gewicht zwischen 180 und 250 g. Die Tiere wurden bei 24° gehalten, bei gleicher Temperatur erfolgten auch die Stoffwechselversuche. 15 Stunden vor Beginn aller Versuche wurde das Futter entzogen.

Sauerstoffverbrauch und respiratorischer Quotient (RQ) wurden mit dem Diaferometer,\* in den Versuchen mit fetternährten Ratten mit Spirometer und Trockenabsorbern bestimmt. Den CoA-Gehalt ermittelten wir nach Tötung der Tiere durch Nackenschlag und Zerkleinerung der Organe unter flüssigem Sauerstoff durch die

\* Fa. Kipp & Zonen.

enzymatische Acetylierung von *p*-Nitranilin (Methode s. Strubelt<sup>5</sup>). CoA-Bestimmungen von unbehandelten Kontrolltieren wurden, über die gesamte Versuchszeit verteilt, unternommen. Die statistische Auswertung erfolgte nach der t-Verteilung. Als Substanzen wurden  $\alpha$ -Dinitrophenol Merck und Isoproterenol (Aludrin<sup>(R)</sup>) verwendet.

#### ERGEBNISSE

20 mg/kg Dinitrophenol oder die gleiche Dosis Isoproterenol bewirken eine erhebliche Stoffwechselsteigerung (s. Abb.). Der mit dem Diaferometer kontinuierlich gemessene Sauerstoffverbrauch stieg bei unseren Tieren unmittelbar nach der intraperitonealen Injektion stark an und erreichte in der ersten Stunde Maximalwerte von 334 bzw. 194% der Ausgangswerte. Die Steigerung des Sauerstoffverbrauchs hält mehrere Stunden an, erst nach 6 Stunden wird der Normalwert wieder erreicht. Der RQ ist in der ersten Stunde nach Injektion beider Substanzen erhöht, in der zweiten Hälfte der Versuchszeit liegt er, besonders ausgeprägt nach DNP, unter den Ausgangswerten (0,73 bis 0,75).

1, 2, 4 und 6 Stunden nach intraperitonealer Injektion von 20 mg/kg DNP bzw. Isoproterenol wurde der CoA-Gehalt in Leber, Niere, Herz, Gehirn und Bauchdeckenmuskulatur bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der

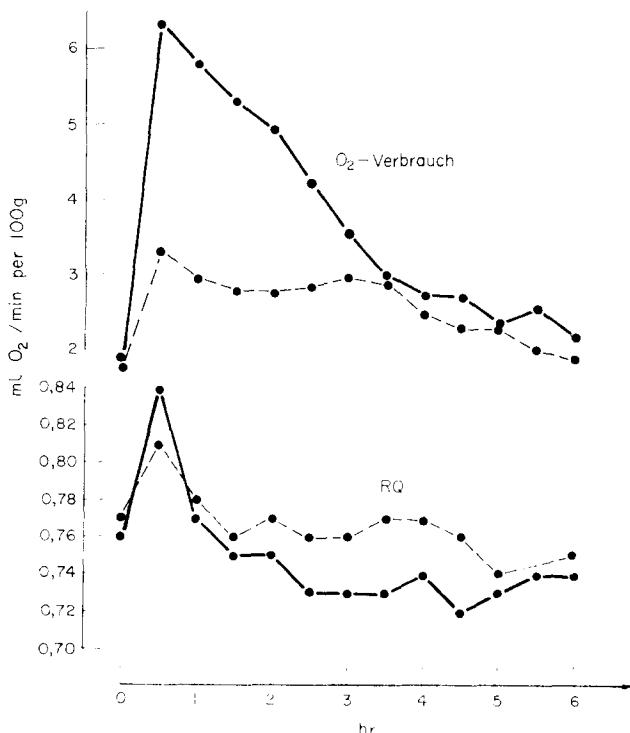


ABB. 1. Sauerstoffverbrauch und respiratorischer Quotient (RQ) nach intraperitonealer Injektion von 20 mg/kg Dinitrophenol (ausgezogene Linie) bzw. Isoproterenol (gestrichelte Linie). Es handelt sich um Mittelwerte aus je 3 Versuchen.

Tabelle zusammengestellt. Nach DNP bleiben die CoA-Aktivitäten in Leber, Niere und Herz in den ersten beiden Stunden unverändert; nach 4 Stunden ist ein leichter, nicht signifikanter Anstieg zu verzeichnen, während der CoA-Gehalt nach 6 Stunden in allen drei Organen signifikant erhöht ist (Leber 19%, Niere 20%, Herz 20%). Isoproterenol lässt die CoA-Aktivität in Leber und Niere zu allen Versuchszeiten unbeeinflusst. Im Herz verursacht es gleiche Veränderungen wie DNP: keine Änderungen nach 1 und 2 Stunden, leichter, nichtsignifikanter Anstieg nach 4 und signifikante Erhöhung (28%) nach 6 Stunden.

Der CoA-Gehalt des Gehirns fällt im Gegensatz zu den anderen Organen in den ersten beiden Stunden um etwa 20% ab, während er nach 6 Stunden um 34 bzw. 27% erhöht ist. Die nur zu zwei Zeiten bestimmten CoA-Werte in der Muskulatur zeigten keine Abweichungen vom Normalwert.

TABELLE 1. DIE KURSIV GESCHRIEBENEN WERTE UNTERSCHIEDEN SICH SIGNIFIKANT VON DEN ENTSPRECHENDEN KONTROLLWERTEN ( $p \leq 0,05$ )

Versuchsgruppe	Zahl d. Tiere	CoA in $\mu\text{M/g}$ Frischgewicht				Muskulatur
		Leber	Niere	Herz	Gehirn	
Kontrolltiere	31	278 $\pm$ 8	123 $\pm$ 4	111 $\pm$ 3	41,7 $\pm$ 2	18,5 $\pm$ 1,4
DNP 1 <sup>h</sup>	8	269 $\pm$ 14	123 $\pm$ 12	101 $\pm$ 6	36 $\pm$ 4	17,4 $\pm$ 7,2
DNP 2 <sup>h</sup>	8	297 $\pm$ 14	122 $\pm$ 7	103 $\pm$ 6	30 $\pm$ 1	
4 <sup>h</sup>	8	306 $\pm$ 11	131 $\pm$ 10	121 $\pm$ 5	41 $\pm$ 3	18,9 $\pm$ 2,6
6 <sup>h</sup>	9	330 $\pm$ 8	148 $\pm$ 6	133 $\pm$ 8	56 $\pm$ 3	
Isoproterenol						
1 <sup>h</sup>	8	255 $\pm$ 15	123 $\pm$ 10	113 $\pm$ 5	31 $\pm$ 3	17 $\pm$ 3,2
2 <sup>h</sup>	8	254 $\pm$ 14	128 $\pm$ 5	103 $\pm$ 4	33 $\pm$ 2	
4 <sup>h</sup>	10	260 $\pm$ 15	133 $\pm$ 8	122 $\pm$ 6	41 $\pm$ 1	19,5 $\pm$ 3,1
6 <sup>h</sup>	8	288 $\pm$ 21	124 $\pm$ 6	142 $\pm$ 12	53 $\pm$ 4	
Fetternährte Tiere	9	340 $\pm$ 14	125 $\pm$ 6	132 $\pm$ 9	43,8 $\pm$ 4	

Eine Gruppe von 9 Ratten erhielt nach 24-stündigem Hungern als einzige Nahrung zweimal täglich 1,5 ml/100 g Olivenöl durch Magensonde. Diese Ölmenge reicht aus, um den normalen Kalorienbedarf von Ratten zu decken. Während der ausschliesslichen Ernährung mit Fett wurden RQ und Sauerstoffverbrauch bestimmt. Der RQ betrug am ersten Tag der Fetternährung im Mittel 0,76, am zweiten Tag 0,70. Der Sauerstoffverbrauch war gegenüber den Tagesmittelwerten von Kontrolltieren unverändert. Am dritten Tag wurden die Tiere 2 Stunden nach der letzten Ölgabe getötet und der CoA-Gehalt in Leber, Niere, Herz und Gehirn bestimmt (Tabelle). Er war in Leber und Herz der fetternährten Ratten um 22 bzw. 19% gegenüber den Normalwerten erhöht, in Niere und Gehirn dagegen unverändert.

#### DISKUSSION

Die Steigerung des Sauerstoffverbrauchs nach DNP beruht auf einer Umsatzsteigerung aller Gewebe durch Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung.<sup>3</sup> Isoproterenol erhöht den Sauerstoffverbrauch einerseits durch Stimulierung der

Herztätigkeit; es müssen jedoch auch Umsatzsteigerungen in anderen Organen angenommen werden.<sup>4</sup> Die von uns verwendeten Dosen beider Pharmaka erhöhen den Sauerstoffverbrauch von Ratten bis auf das Drei- bzw. Zweifache der Normalwerte. Dieser 6 Stunden anhaltenden Sauerstoffverbrauchssteigerung muss eine entsprechende Zunahme dissimilatorischer Prozesse im Intermediärstoffwechsel zugrunde liegen. Die nach DNP und Isoproterenol gleichsinnigen Veränderungen des respiratorischen Quotienten weisen darauf hin, dass zunächst die durch Glykogenmobilisierung frei werdenden Kohlenhydratreserven verbraucht werden, während später der Anteil der Fette an der Kaloriedeckung zunimmt.

Die CoA-Aktivitäten in Leber, Niere, Herz und Muskulatur bleiben während der ersten 4 Stunden nach Gabe von DNP und Isoproterenol trotz der intensiven Stoffwechselsteigerung nahezu unverändert, im Gehirn zeigt sich sogar ein Abfall. Die von LYNEN an Hefezellen beobachtete Abhängigkeit des CoA-Gehalts vom Sauerstoffverbrauch trifft also für den tierischen Organismus nicht zu. Die in den Organen bei Normalumsatz vorhandenen Mengen an CoA reichen offenbar auch für eine mehrstündige Steigerung des Stoffwechsels voll aus.

Erst nach 6 Stunden, zu einem Zeitpunkt, an dem sich der Sauerstoffverbrauch bereits wieder normalisiert hat, ist der CoA-Gehalt in einigen der untersuchten Organe geringgradig erhöht. Da das CoA in besonderem Mass bei der Fettverbrennung beansprucht wird und die Änderungen des RQ auf eine Zunahme der Fettverbrennung in der zweiten Hälfte der durch DNP und Isoproterenol verursachten Stoffwechselsteigerung hinweisen, lag es nahe, hier die Ursache des späten CoA-Anstiegs zu suchen. Um diese Vermutung zu belegen, wurde eine Gruppe von Ratten über zwei Tage nur mit Fett ernährt. Der RQ fiel bei diesen Tieren am zweiten Tag infolge der ausschliesslichen Fettverbrennung auf 0,70.

Der CoA-Spiegel war in Leber und Herz der fetternährten Ratten etwa in gleichem Umfang erhöht wie 6 Stunden nach DNP und Isoproterenol. Es ist anzunehmen, dass zumindest in diesen Organen der späte CoA-Anstieg nach DNP und Isoproterenol durch den vermehrten Abbau von Fetten verursacht wird.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die CoA-Aktivitäten in Leber, Niere, Herz und Muskulatur bleiben während der mehrstündigen Steigerung des Sauerstoffverbrauchs nach Injektion von 20 mg/kg Dinitrophenol oder Isoproterenol unverändert und fallen im Gehirn sogar ab. Erst nach Normalisierung des Sauerstoffverbrauchs ist der CoA-Gehalt einiger Organe geringgradig erhöht. Dies beruht wahrscheinlich auf der zu diesem Zeitpunkt vermehrten Fettverbrennung; über 2 Tage nur mit Fett ernährte Ratten weisen ebenfalls einen erhöhten CoA-Spiegel in Leber und Herz auf.

*Anerkennung*—Ich danke Fr. Ingrid Schuster für gewissenhafte Mitarbeit.

#### LITERATUR

1. F. LYNEN, E. REICHERT und L. RUEFF, *Liebigs Ann.* **574**, 1 (1951).
2. I. I. A. TABACHNIK und D. D. BONNYCASTLE, *J. Biol. Chem.* **207**, 757 (1954).
3. W. F. LOOMIS und F. LIPMANN, *J. Biol. Chem.* **173**, 807 (1948).
4. O. STRUBELT und H. BREINING, *Arzneim.-Forsch.* im Druck.
5. STRUBELT, O., *Strahlentherapie*, **121**, 613 (1963).