

ZUM MECHANISMUS DER KALORIGENEN WIRKUNG VON THEOPHYLLIN UND COFFEIN

O. STRUBELT und C.-P. SIEGERS

Institut für Pharmakologie
der Medizinischen Akademie Lübeck, Germany

(Received 24 December 1968; accepted 8 January 1969)

Abstract—The calorogenic actions of theophylline and caffeine in rats were investigated by indirect calorimetry. 60 mg/kg theophylline or caffeine increased oxygen consumption in awake rats by 65 or 62 per cent, respectively, and in anesthetized rats only by 38 or 37 per cent, respectively. Enhanced motility, therefore, causes about half of the increment of metabolic rate seen after methylxanthines in awake rats.

In anesthetized rats, the increase of oxygen consumption induced by 6.6 mg/kg theophylline or caffeine was abolished completely by pretreatment with reserpine (2 mg/kg i.p.). The calorogenic actions of 60 mg/kg theophylline or caffeine, however, were not diminished by reserpine, and only partially inhibited by adrenal demedullation plus reserpine. Propranolol (10 mg/kg i.p.), on the other hand, blocked the increments of metabolic rate induced by 60 mg/kg of theophylline and caffeine in anesthetized rats completely. Theophylline (6.6 mg/kg i.p.) did not influence the calorogenic activity of adrenaline (0.3 mg/kg i.p.).

It is concluded that the calorogenic actions of small doses of methylxanthines are mediated exclusively by released catecholamines. Those of larger doses, however, are possibly due not only to the indirect but also to a direct calorogenic action of the methylxanthines.

STEIGERUNGEN des äußeren Stoffwechsels nach Theophyllin und Coffein bzw. Kaffee sind bei wachen Versuchspersonen und Versuchstieren mehrfach beschrieben worden.¹⁻¹⁰ Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß sich auch der Energieumsatz narkotisierter Tiere durch Theophyllin oder Kaffee erhöhen läßt.¹¹⁻¹³

Der Mechanismus der kalorigenen Wirkung der Methylxanthine ist unbekannt. Zu seiner Erklärung bieten sich auf Grund der vorliegenden Literatur zwei Alternativen an. Einerseits könnte die kalorogene Wirkung von Theophyllin und Coffein auf eine Freisetzung körpereigener Sympathicusstoffe zurückzuführen sein, wie sie nach Theophyllin und Coffein bzw. Kaffee in neuerer Zeit mehrfach beschrieben wurde;¹⁴⁻¹⁷ denn auch Adrenalin und Noradrenalin besitzen bekanntlich eine ausgeprägte kalorogene Wirksamkeit.^{18,19} Andererseits könnte es sich bei der Stoffwechselsteigerung um eine direkte Wirkung der Methylxanthine handeln. Als biochemische Grundlage einer solchen direkten Wirkung käme die von Butcher und Sutherland²⁰ nachgewiesene Hemmung der Phosphodiesterase in Frage, die durch einen verzögerten Abbau zu einer Akkumulation von zyklischem 3',5'-Adenosin-monophosphat (3',5'-AMP) führen kann.²¹

Die vorliegende Untersuchung beschränkt sich darauf, den Anteil endogener Katecholamine an den kalorigenen Wirkungen von Theophyllin und Coffein zu

bestimmen. Zu diesem Zweck unternahmen wir Versuche an Tieren, bei denen wir den Sympathicus pharmakologisch und operativ ausgeschaltet hatten.

METHODIK

Als Versuchstiere dienten männliche Ratten (konventionelle Tiere, Stamm Wistar II der Tierzuchterei Brünger) im Gewicht von 260 bis 400 g. Die Tiere wurden bei 23° gehalten und bekamen Altromin-R-Trockenfutter und Wasser ad libitum. 15–20 Stunden vor den Versuchen wurde das Futter entzogen, während Wasser bis zum Versuchsbeginn belassen wurde.

O₂-Verbrauch und CO₂-Abgabe wurden an einzelnen Ratten mit dem Diaferometer nach NOYON (Kipp und Zonen, Delft) gemessen und in üblicher Weise auf Normalbedingungen (0° und 760 mmHg) reduziert. Die Tiere befanden sich während der Stoffwechsellmessungen in einer Stoffwechselkammer (Volumen ca. 5 l), deren Temperatur durch einen Thermostaten auf 28° gehalten wurde. In den Versuchen an wachen Ratten wurden diese am Vortage sowie unmittelbar vor Versuchsbeginn je eine Stunde an die Apparatur gewöhnt. In den Versuchen an narkotisierten Ratten kamen die Tiere unmittelbar nach Injektion von 1·2 g/kg Urethan i.m. in die Stoffwechselkammer; mit den Messungen wurde nach ca. einer Stunde begonnen. Bei den narkotisierten Ratten bestimmten wir neben dem äußeren Stoffwechsel auch die Herzfrequenz mit einem Elektrokardiographen und die Rektaltemperatur mit einem Thermistor.

Die untersuchten Parameter wurden zunächst dreimal im Abstand von 15 min (Ausgangswerte) und nach i.p. Injektion von Theophyllin bzw. Coffein in Abständen von 10 bzw. 15 min weiterhin über 2 Stunden bestimmt. Die 3 Ausgangswerte wurden gemittelt und so ein mittlerer Ausgangswert errechnet, der im folgenden als "Ausgangswert" bezeichnet wird. In jedem Versuch wurden die Differenzen der untersuchten Parameter zu den Ausgangswerten errechnet, innerhalb der Versuchsgruppen gemittelt und zwischen den Versuchsgruppen statistisch verglichen. Beim O₂-Verbrauch bestimmten wir außerdem in jedem Versuch aus dem Unterschied zwischen den nach Theophyllin bzw. Coffein gemessenen Werten und den Ausgangswerten das Integral des O₂-Mehrverbrauchs ($\int \Delta O_2$). Negative Abweichungen vom Ausgangswert traten kaum auf; sie wurden bei der Berechnung von $\int \Delta O_2$ nicht berücksichtigt.

Die operative Entfernung des Nebennierenmarks wurde nach der Methode von Evans²² 3–4 Wochen vor den Versuchen unternommen, während Reserpin (2 mg/kg i.p.) 14–20 Stunden vor Versuchsbeginn gegeben wurde.

Die statistische Auswertung erfolgte an Hand der t-Verteilung. Ein Unterschied wurde als signifikant angesehen, wenn $P < 0.05$ war. In den Abbildungen und Tabellen sind die Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern angegeben ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

Verwendete Substanzen: L-Adrenalin-hydrochlorid; Coffeinum anhydricum; Propranolol-hydrochlorid (Dociton^(R)), Reserpin (Sedaraupin^(R)), Theophyllinum anhydricum; Theophyllin-Äthylendiamin (Aminophyllin, Euphyllin^(R)); Urethan DAB 6. Mit Ausnahme von Urethan und Reserpin wurden alle Substanzen in 0.9% iger NaCl-Lösung gelöst und intraperitoneal injiziert. Die Dosis von 180 mg/kg Theophyllin wurde in Form von Aminophyllin (224 mg/kg) gegeben. Urethan wurde Aqua dest. gelöst und intramuskulär gegeben, während Reserpin bereits in gelöster Form vorlag. Alle Dosen sind pro kg Körpergewicht angegeben und beziehen sich be

Adrenalin auf die Base, bei allen übrigen Substanzen auf das Gesamtmolekül.

ERGEBNISSE

1. Der Einfluß der Methylxanthine auf den O_2 -Verbrauch wacher und narkotisierter Ratten

Der mittlere Ausgangswert des O_2 -Verbrauchs betrug bei wachen Ratten 2.29 ± 0.11 ml/min/100 g ($N = 30$), bei den narkotisierten Tieren dagegen 2.10 ± 0.03 ml/min/100 g ($N = 44$). Der O_2 -Verbrauch der narkotisierten Ratten lag somit etwas niedriger als der der wachen Tiere; dieser Unterschied ließ sich jedoch statistisch nicht sichern.

Die Werte des über 120 min integrierten O_2 -Mehrverbrauchs der einzelnen Versuchsgruppen sind in Tabelle 1 (wache Ratten) und Tabelle 2 (narkotisierte Ratten) zusammengestellt. Wie frühere Kontrollversuche²³ gezeigt haben, kommt es unter

TABELLE 1. ÜBER 120 min INTEGRIERTER O_2 -MEHRVERBRAUCH IN DEN VERSUCHEN AN WACHEN RATTEN ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Nr. Behandlung	Dosis mg/kg	N	$\int \Delta O_2$ ml/100 g	
1 0.9% NaCl		8	13.9 ± 2.3	
2 Theophyllin	60	6	138.0 ± 15.8	* gegen 1
3 Coffein	60	5	104.2 ± 8.4	* gegen 1
4 Propranolol	10	5	109.7 ± 7.8	
+ Theophyllin	60			
5 Propranolol	10	6	75.8 ± 16.3	
+ Coffein	60			

N = Zahl der Versuche. * = $P < 0.05$.

unseren Versuchsbedingungen nach einer Injektion von 0.9%iger NaCl-Lösung nur zu geringfügigen Änderungen des O_2 -Verbrauchs. Bei wachen Tieren trat auf den Reiz der NaCl-Injektion hin eine Steigerung des O_2 -Verbrauchs ein, die nach 10 min ihr Maximum (+ 14% der Ausgangswerte) erreicht hatte und nach 30 min bereits abgeklungen war. Bei den narkotisierten Tieren blieb dieser initiale motilitätsbedingte Anstieg des O_2 -Verbrauchs aus; der Energieumsatz zeigte aber eine langsam steigende Tendenz und lag am Ende der zweistündigen Versuchsdauer um 8% über den Ausgangswerten. Die in diesen Kontrollversuchen ermittelten Werte des integrierten O_2 -Mehrverbrauchs sind in den Tabellen 1 und 2 nochmals aufgeführt, um die kalorigenen Wirkungen der Methylxanthine mit diesen spontanen Änderungen des O_2 -Verbrauchs vergleichen zu können.

In Abb. 1 ist der zeitliche Verlauf des O_2 -Verbrauchs wacher und narkotisierter Ratten nach 60 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein vergleichend dargestellt. Beide Methylxanthine steigerten den O_2 -Verbrauch der wachen Ratten stärker als den der narkotisierten. So betrug das Maximum des Anstiegs nach Theophyllin bzw. Coffein bei den wachen Tieren 65 bzw. 62%, bei den narkotisierten dagegen nur 38 bzw. 37% der Ausgangswerte der jeweiligen Versuchsgruppen. Auch der zeitliche Verlauf der Stoffwechselsteigerung war bei wachen und narkotisierten Ratten unterschiedlich. Bei den wachen Tieren wurden die Maxima des O_2 -Verbrauchs bereits 20 min nach Applikation der Methylxanthine erreicht; anschließend fiel der O_2 -Verbrauch wieder

langsam ab. Der Anstieg des O₂-Verbrauchs der narkotisierten Tiere war demgegenüber sehr viel langsamer, die Maximalwerte wurden erst nach etwa 1 Stunde erreicht und während des weiteren Versuchsablaufs nicht mehr unterschritten.

Nach beiden Methylxanthinen beobachteten wir bei wachen Ratten eine deutliche Steigerung der Motilität. Dies dürfte die Ursache dafür sein, daß die Erhöhungen des O₂-Verbrauchs nach Theophyllin und Coffein bei wachen Tieren stärker waren als bei narkotisierten. Da uns in dieser Untersuchung die metabolischen und nicht die zentralen Effekte der Methylxanthine interessierten, unternahmen wir die weiteren Versuche (bis auf eine Versuchsserie mit Propranolol) ausschließlich an narkotisierten Tieren.

Neben den bereits besprochenen Versuchen mit der Dosis von 60 mg/kg wurden

TABELLE 2. ÜBER 120 min INTEGRIERTER O₂-MEHRVERBRAUCH ($\int \Delta O_2$)
IN DEN AN NARKOTISIERTEN RATTEN UNTERNOMMENEN VERSUCHEN
($\bar{x} \pm s\bar{x}$)

Nr. Behandlung	Dosis mg/kg	N	$\int \Delta O_2$ ml/100 g
1 0.9% NaCl		10	13.7 \pm 4.1
2 Theophyllin	6.6	8	40.0 \pm 6.7 * gegen 1
3 Theophyllin	20	5	50.5 \pm 5.5 * gegen 1
4 Theophyllin	60	10	75.7 \pm 7.8 * gegen 1
5 Theophyllin	180	5	111.2 \pm 16.6 * gegen 1
6 Coffein	6.6	8	40.1 \pm 4.5 * gegen 1
7 Coffein	20	5	57.1 \pm 9.4 * gegen 1
8 Coffein	60	8	73.6 \pm 8.7 * gegen 1
9 Reserpin	2	8	10.2 \pm 3.1 * gegen 2
+ Theophyllin	6.6		
10 Reserpin	2	8	99.2 \pm 8.6 * gegen 4
+ Theophyllin	60		
11 Reserpin	2	8	11.8 \pm 4.1 * gegen 6
+ Coffein	6.6		
12 Reserpin	2	8	59.5 \pm 5.9
+ Coffein	60		
13 ME + Reserpin	2	5	8.5 \pm 4.1
+ 0.9% NaCl			
14 ME + Reserpin	2	8	31.3 \pm 8.6 * gegen 4 u. 13
+ Theophyllin	60		
15 ME + Reserpin	2	8	27.8 \pm 3.5 * gegen 8 u. 13
+ Coffein	60		
16 Propranolol	1	5	30.7 \pm 5.8 * gegen 4 u. 1
+ Theophyllin	60		
17 Propranolol	3	5	24.9 \pm 9.0 * gegen 4 u. 1
+ Theophyllin	60		
18 Propranolol	10	5	13.8 \pm 3.7 * gegen 4
+ Theophyllin	60		
19 Propranolol	10	5	75.6 \pm 3.9 * gegen 1
+ Theophyllin	180		
20 Propranolol	10	5	12.5 \pm 4.6 * gegen 8
+ Coffein	60		
21 Adrenalin	0.3	12	57.0 \pm 5.3 * gegen 1
22 Theophyllin	6.6	5	67.2 \pm 8.1 * gegen 1
+ Adrenalin	0.3		

N = Zahl der Versuche. * = $P < 0.05$. ME = Medullectomie.

auch die Wirkungen von 6·6, 20 und 180 mg/kg Theophyllin sowie 6·6 und 20 mg/kg Coffein auf den O_2 -Verbrauch narkotisierter Ratten untersucht (Tabelle 2, Abb. 2). Beide Methylxanthine bewirkten in allen Dosierungen signifikante Steigerungen des O_2 -Verbrauchs, wobei die Wirkung mit steigender Dosis zunahm und bei Theophyllin und Coffein gleich groß war (Tabelle 2).

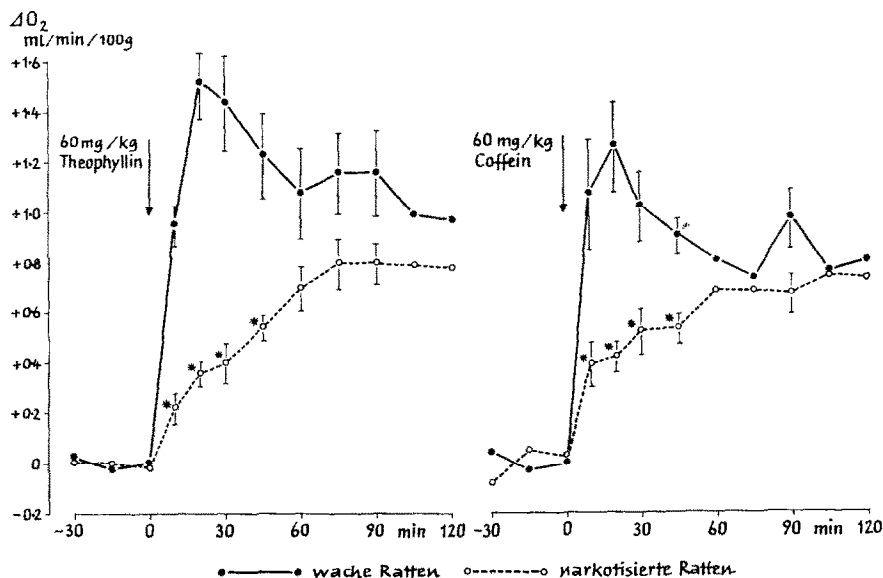


ABB. 1. Änderungen des O_2 -Verbrauches wacher und narkotisierter Ratten nach 60 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein i.p. ($\bar{x} \pm s_x$). N = 5–10. * = signifikanter Unterschied zum gleichzeitigen Wert der anderen Gruppe.

2. Der Einfluß von Reserpin

Um die Beteiligung endogener Katecholamine an den kalorigen Effekten der Methylxanthine zu bestimmen, untersuchten wir die Wirkungen von 6·6 und 60 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein an narkotisierten Ratten, die 16–20 Stunden vorher mit Reserpin (2 mg/kg i.p.) behandelt worden waren. Der mittlere Ausgangswert des O_2 -Verbrauchs betrug bei den reserpinisierten, narkotisierten Ratten im Mittel aus 32 Versuchen $2 \cdot 10 \pm 0 \cdot 05$ ml/min/100 g und entsprach somit dem unvorbehandelter Tiere in Narkose.

Wie aus den Werten des integrierten O_2 -Mehrverbrauchs (Tabelle 2) zu ersehen ist, wurden die kalorigen Wirkungen von 6·6 mg/kg Theophyllin und Coffein durch Reserpin vollständig unterbunden; der verbliebene O_2 -Mehrverbrauch entspricht dem von Kontrolltieren nach Injektion von NaCl-Lösung. In Abb. 2 ist der zeitliche Verlauf von O_2 -Verbrauch und Herzfrequenz nach 6·6 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein bei reserpinisierten Ratten einerseits und nicht vorbehandelten andererseits vergleichend dargestellt. Wie zu sehen, hemmte Reserpin in diesen Versuchen neben der Stoffwechselsteigerung auch weitgehend die durch Theophyllin und Coffein ausgelöste Tachykardie.

Die stoffwechselsteigernde Wirkung von Theophyllin und Coffein in der Dosierung

von 60 mg/kg ließ sich dagegen durch Reserpin weder aufheben noch vermindern (Tabelle 2). Der integrierte O_2 -Mehrverbrauch war nach 60 mg/kg Theophyllin bei den reserpinisierten Tieren sogar etwas höher als bei den unvorbehandelten Kontrolltieren. Die positiv chronotropen Effekte der hohen Dosen von Theophyllin und Coffein wurden durch Reserpin zwar abgeschwächt, jedoch in geringerem Umfang als die nach der Dosis von 6-6 mg/kg.

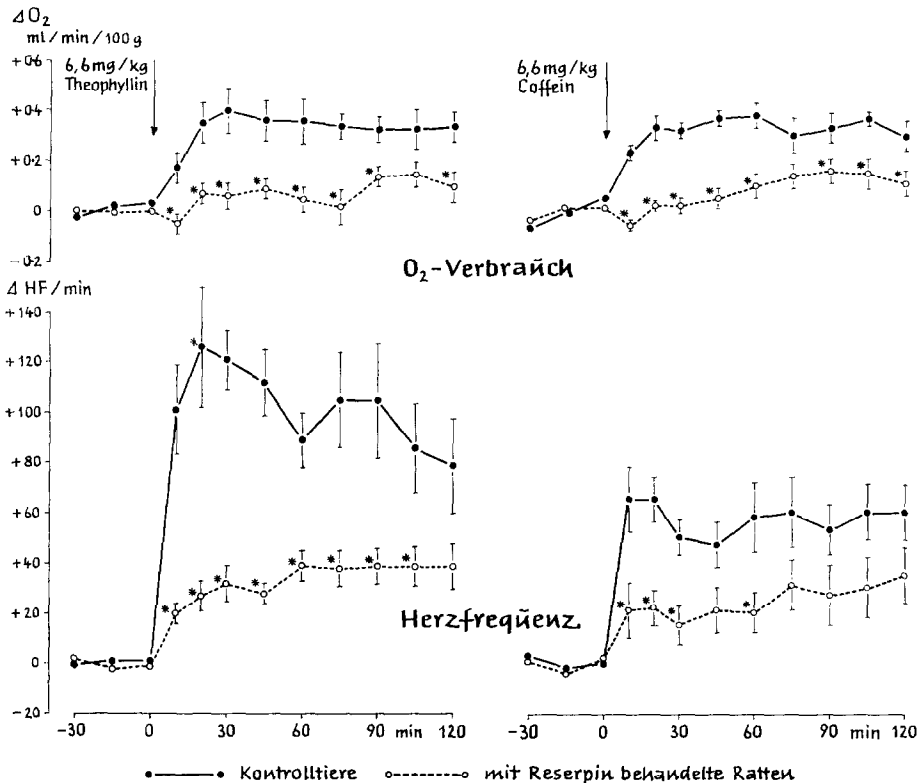


Abb. 2. Der Einfluß von 6.6 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein i.p. auf O_2 -Verbrauch und Herzfrequenz ($\bar{x} \pm s_x$) narkotisierter und narkotisierter, reserpinisierter Ratten (2 mg/kg Reserpin 20 Std. vorher i.p.). N = jeweils 8. * = signifikanter Unterschied zum gleichzeitigen Wert der anderen Gruppe.

3. Demedullierung und Reserpin

Um auch die endogenen Katecholamine des Nebennierenmarks vollständig auszuschalten, entfernten wir in einer weiteren Versuchsgruppe 3-4 Wochen vor den Stoffwechseluntersuchungen das Nebennierenmark und gaben zusätzlich 16-20 Stunden vor den Versuchen Reserpin (2 mg/kg i.p.). Die Ausgangswerte des O_2 -Verbrauchs betrugen bei diesen demedulierten reserpinisierten Tieren im Mittel 1.95 ± 0.05 ml/min/100 g (N = 21) und lagen somit um 7% niedriger als die Ausgangswerte nicht vorbehandelter narkotisierter Ratten ($P < 0.05$); nach Injektion von NaCl-Lösung (N = 5) kam es bei diesen Tieren zu den gleichen geringen Abweichungen des äußeren Stoffwechsels vom Ausgangswert, wie wir sie in den Kontroll-

versuchen auch bei narkotisierten Tieren ohne Vorbehandlung beobachtet hatten (Tabelle 2).

Wir untersuchten den Einfluß von 60 mg/kg Theophyllin und Coffein auf den äußeren Stoffwechsel demedullierter und reserpinisierter Tiere. In Abb. 3 ist der zeitliche Verlauf der untersuchten Parameter dargestellt; zum Vergleich wurden die Wirkungen von 60 mg/kg Theophyllin und Coffein bei nicht vorbehandelten Ratten

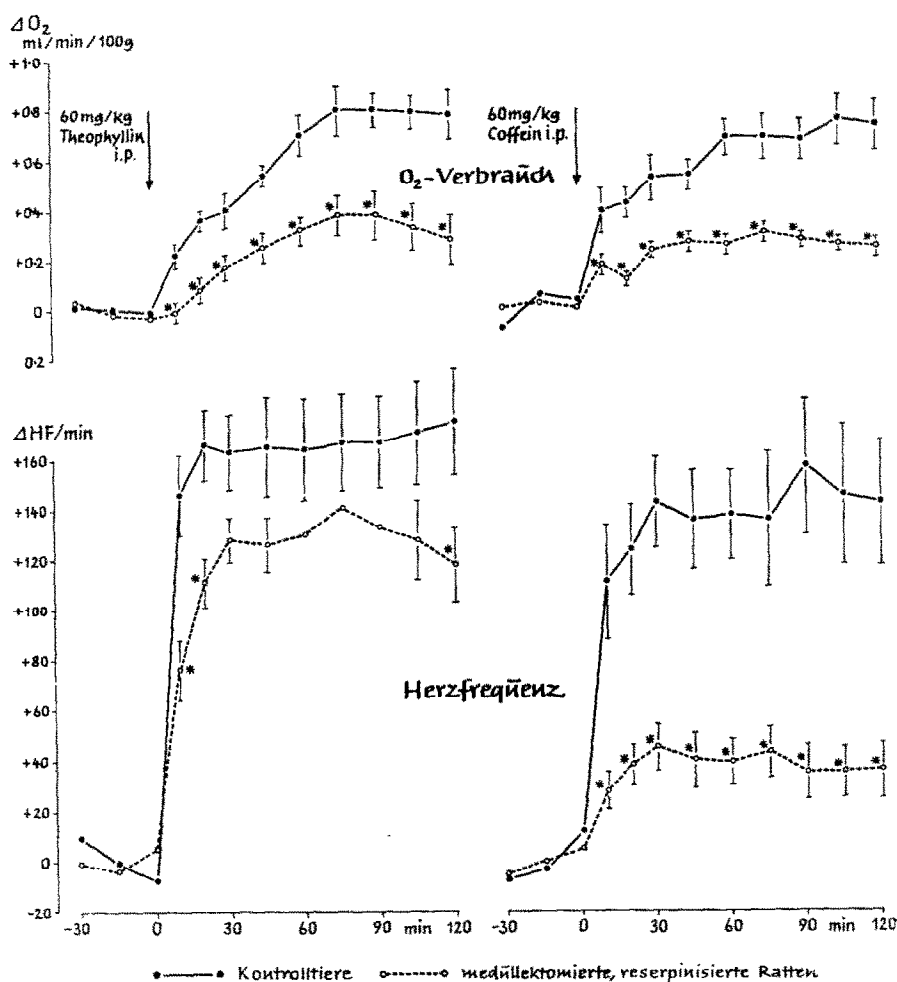


ABB. 3. Änderungen von O_2 -Verbrauch und Herzfrequenz ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) nach 60 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein i.p. bei unvorbehandelten sowie medullektomierten, reserpinisierten Ratten in Narkose. $N = 8-10$. * = signifikanter Unterschied zum gleichzeitigen Wert der anderen Versuchsgruppe.

eingezeichnet. Verglichen mit diesen Kontrolltieren bewirkte die Demedullierung und Reserpinisierung eine Minderung der kalorigen Effekte beider Methylxanthine um etwa zwei Drittel (Abb. 3, Tabelle 2). Eine vollständige Aufhebung der Umsatzsteigerung ließ sich jedoch nicht erreichen: Wie aus Tabelle 2 zu ersehen ist, bewirkten 60 mg/kg Theophyllin und Coffein an demedullierten und reserpinisierten Ratten

einen O_2 -Mehrverbrauch, der signifikant größer war als der nach Injektion von Kochsalzlösung erzielte Wert.

Auch die chronotropen Wirkungen der Methylxanthine wurden durch die Demedullierung und Reserpinisierung gehemmt, allerdings in unterschiedlichem Ausmaß: Die Tachykardie nach Coffein wurde stärker vermindert als die nach Theophyllin (Abb. 3).

4. Propranolol

Propranolol wurde 10 min vor den Methylxanthinen i.p. injiziert. In Übereinstimmung mit früheren Versuchen²⁴ ließ Propranolol den O_2 -Verbrauch narkotisierter wie auch wacher Ratten unbeeinflusst.

An narkotisierten Ratten hemmte Propranolol in Dosen von 1 und 3 mg/kg die kalorogene Wirkung von 60 mg/kg Theophyllin zu etwa zwei Dritteln (Tabelle 2). 10 mg/kg Propranolol blockierten die Umsatzsteigerung nach 60 mg/kg Theophyllin wie auch die nach 60 mg/kg Coffein vollständig (Tabelle 2, Abb. 4). Durch Erhöhung

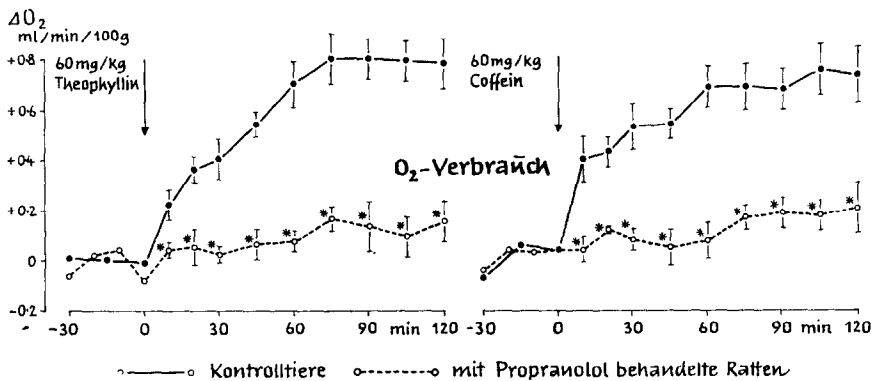


ABB. 4. Der Einfluß von Propranolol (10 mg/kg i.p. 10 min vor den Methylxanthinen) auf die kalorigen Wirkungen von 60 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein i.p. bei narkotisierten Ratten.

N = 5-10. * = signifikanter Unterschied zum gleichzeitigen Wert der anderen Versuchsgruppe.

der Theophyllindosis ließ sich die blockierende Wirkung von Propranolol teilweise durchbrechen: Die kalorogene Wirkung von 180 mg/kg Theophyllin wurde durch 10 mg/kg Propranolol nur mehr zu etwa einem Drittel gehemmt.

Auch die positiv chronotropen Wirkungen der Methylxanthine ließen sich in Übereinstimmung mit früheren Versuchen²⁵ durch Propranolol teilweise hemmen.

Neben diesen Versuchen an narkotisierten Ratten haben wir auch den Einfluß von 10 mg/kg Propranolol auf die durch 60 mg/kg Theophyllin und Coffein an wachen Ratten ausgelösten Stoffwechselsteigerungen untersucht (Tabelle 1, Abb. 5). Propranolol verminderte die kalorogene Wirkung der Methylxanthine auch an wachen Ratten. Diese Hemmwirkung war jedoch nur partiell und beschränkte sich auf die ersten 30 min. Im weiteren Verlauf glich sich der O_2 -Verbrauch der mit Propranolol behandelten wachen Ratten dem der nicht vorbehandelten Vergleichsgruppe an (Abb. 5).

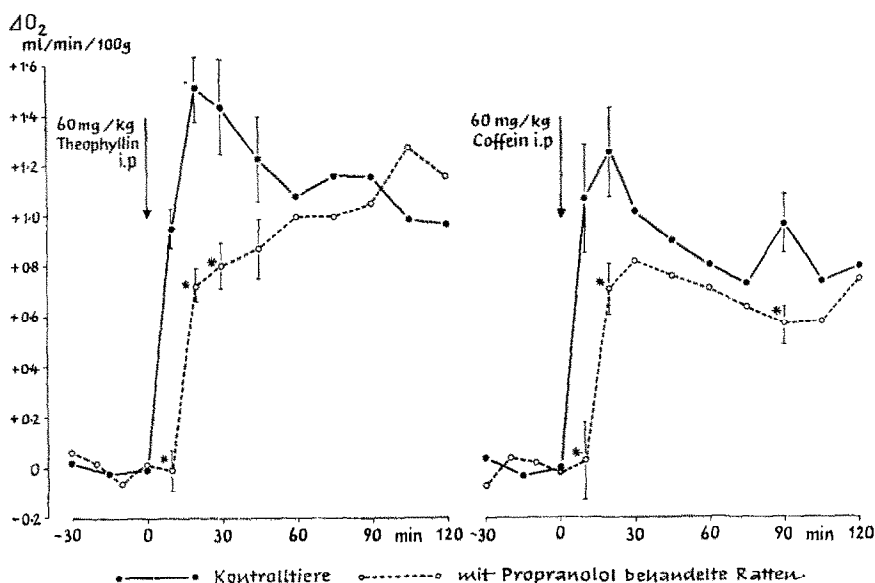


ABB. 5. Der Einfluß von Propranolol (10 mg/kg i.p. 10 min vor den Methylxanthinen) auf die kalorigenen Wirkungen von 60 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein i.p. bei wachen Ratten. N = 5-6.
* = signifikanter Unterschied zum gleichzeitigen Wert der anderen Versuchsgruppe.

5. Theophyllin und Adrenalin

Methylxanthine potenzieren die inotropen,²⁶ lipolytischen²¹ und glykogenolytischen²⁷ Wirkungen der Katecholamine. Dieser Effekt wird auf die Hemmung der Phosphodiesterase zurückgeführt, die zu einem verzögerten Abbau des unter dem Einfluß der Katecholamine vermehrt gebildeten 3',5'-AMP führen soll. Um zu klären, ob die Methylxanthin-bedingten Umsatzsteigerungen möglicherweise durch eine Potenzierung der kalorigen Wirkung endogener Katecholamine verursacht werden, untersuchten wir den Einfluß von 6,6 mg/kg Theophyllin (10 min vorher i.p.) auf die kalorigene Wirkung von 0,3 mg/kg Adrenalin (Tabelle 2). Obwohl 6,6 mg/kg Theophyllin bereits allein einen O₂-Mehrverbrauch von 40,0 ml/min/100 g hervorriefen, führte die Kombination von Theophyllin mit Adrenalin zu keinem signifikant höheren O₂-Mehrverbrauch als Adrenalin allein. Auch beim Vergleich der Einzelwerte des O₂-Verbrauchs zeigte die Vorbehandlung mit Theophyllin keinen Einfluß auf die kalorigene Wirkung von Adrenalin.

6. Respiratorischer Quotient und Körpertemperatur

Die Ausgangswerte des respiratorischen Quotienten (RQ) lagen bei wachen wie bei narkotisierten Ratten im Mittel zwischen 0,78 und 0,81, ohne daß Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen bestanden. In den Kontrollversuchen (Injektion von NaCl-Lösung) zeigten sich nur ungerichtete Schwankungen des RQ um den Ausgangswert.

Auch nach den kleineren Dosen der Methylxanthine (6,6 und 20 mg/kg) kam es zu keinen nennenswerten Änderungen des RQ. Nach 60 bzw. 180 mg/kg Theophyllin stieg der RQ dagegen bei wachen wie bei narkotisierten Tieren um 0,06 bis 0,08 an.

Dieser Anstieg war jedoch nur kurzdauernd; bereits nach 20 min wurden wieder die Ausgangswerte erreicht. Im weiteren Verlauf hatte der RQ eine leicht abfallende Tendenz, so daß die Endwerte (120 min) nach diesen hohen Dosen von Theophyllin um 0.04 bis 0.06 niedriger lagen als die Ausgangswerte. Nach 60 mg/kg Coffein zeigte der RQ keinen initialen Anstieg, jedoch ebenfalls eine während des gesamten Versuchszeitraums leicht abfallende Tendenz.

Das Verhalten des RQ nach 60 mg/kg Theophyllin und Coffein bei reserpinisierten Ratten entsprach den eben geschilderten Verhältnissen bei unvorbehandelten Tieren. Bei den reserpinisierten, medullektomierten Ratten sowie nach Propranolol waren die Änderungen des RQ nach Gabe der Methylxanthine erheblich geringer als bei unvorbehandelten Tieren.

Die Ausgangswerte der nur bei den narkotisierten Ratten bestimmten Rektaltemperatur betrugen bei unvorbehandelten Ratten $37.0 \pm 0.1^\circ$ ($N = 44$), bei reserpinisierten Ratten $36.5 \pm 0.1^\circ$ ($N = 31$; $P < 0.05$) und bei reserpinisierten, medullektomierten Ratten $35.7 \pm 0.2^\circ$ ($N = 21$; $P < 0.05$). Nach Gabe der Methylxanthine kam es bei den unvorbehandelten Ratten gleichzeitig mit den Stoffwechselsteigerungen zu einem leichten Temperaturanstieg. Die Maxima dieser Temperatursteigerung wurden am Ende der 2. Stunde erreicht und betrugen nach 6.6 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein im Mittel 0.1 bzw. 0.2° , nach 20 mg/kg 0.3 bzw. 0.5° , nach 60 mg/kg 0.5° und nach 180 mg/kg Theophyllin 1.4° . Vergleichbare Temperatursteigerungen traten nach Theophyllin und Coffein auch bei den reserpinisierten sowie den reserpinisierten, medullektomierten Ratten auf, nicht dagegen nach Vorbehandlung mit Propranolol.

DISKUSSION

Steigerungen des Energieumsatzes beruhen entweder auf gesteigerten Organfunktionen oder aber auf einer Erhöhung des Basalstoffwechsels. Da die Methylxanthine eine ausgeprägte zentralerregende Wirksamkeit besitzen, liegt es nahe, ihre Wirkungen auf den Energieumsatz als Folge gesteigerter Motilität anzusehen. Unsere Versuche zeigen, daß diese Annahme in der Tat teilweise richtig ist: Die kalorigenen Wirkungen von Theophyllin und Coffein waren bei narkotisierten Ratten, bei denen eine Motilität von vornherein ausgeschlossen war, nur etwa halb so groß wie bei wachen Tieren.

Stoffwechselsteigerungen ließen sich durch Theophyllin und Coffein aber auch an narkotisierten Ratten auslösen. Dies zeigt, daß die Methylxanthine den Energieumsatz auch auf einem anderen Wege als über die Motilität erhöhen können. Der Mechanismus dieser kalorigenen Wirkung im engeren Sinne war Gegenstand der vorliegenden Untersuchung.

Wir stellten zunächst fest, daß die kalorigenen Wirkungen von Theophyllin und Coffein an narkotisierten Ratten dosisabhängig und gleich stark sind. Letzteres ist bemerkenswert, da wir in vorangehenden Untersuchungen am gleichen Tiermaterial eine im Vergleich mit Coffein stärkere chronotrope und hyperglykämische Wirksamkeit des Theophyllins gefunden haben.^{25,28}

Theophyllin und Coffein setzen Katecholamine frei.¹⁴⁻¹⁷ Weiterhin wurde nachgewiesen, daß die broncholytischen, inotropen und chronotropen Wirkungen der Methylxanthine *in vivo*^{29,30,25} wie auch die durch sie ausgelöste Hyperglykämie²⁸ teilweise auf indirekt sympathischem Wege zustande kommen. Es lag daher nahe,

auch die kalorigene Wirkung der Methylxanthine als eine Folge der Katecholamin-liberierung anzusehen.

Um diese Hypothese zu prüfen, unternahmen wir Versuche an reserpinisierten Ratten. Reserpin, das die endogenen Katecholaminspeicher entleert,³¹ hemmte die kalorigenen Wirkungen von 6.6 mg/kg Theophyllin und Coffein vollständig. Hieraus ist zu schließen, daß die stoffwechselsteigernde Wirkung dieser kleinen Dosen der Methylxanthine ausschließlich auf indirektem Wege über eine Freisetzung körpereigener Sympathicusstoffe zustande kommt.

Die kalorigenen Effekte von 60 mg/kg Theophyllin und Coffein wurden dagegen durch Reserpin nicht beeinträchtigt. Bei der Beurteilung dieses Befundes muß jedoch berücksichtigt werden, daß Reserpin die Katecholamine des Nebennierenmarks im Unterschied zu denen der übrigen Organe nur unvollständig ausschüttet.³² Bei Ratten, denen wir neben der Reserpinbehandlung das Nebennierenmark 3–4 Wochen vor den Versuchen operativ entfernt hatten, war die Stoffwechselsteigerung nach 60 mg/kg Theophyllin und Coffein denn auch um etwa zwei Drittel geringer als bei nicht vorbehandelten Kontrolltieren. Auch die stoffwechselsteigernden Wirkungen hoher Dosen der Methylxanthine sind also zum Teil indirekt sympathisch, wobei die hier freigesetzten Katecholamine offenbar aus dem Nebennierenmark stammen.

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, daß der β -Blocker Propranolol die kalorigenen Wirkungen exogener und endogener Katecholamine vollständig verhindert.^{24, 33} Propranolol müßte deshalb auch den sympathischen Anteil an den kalorigenen Effekten der Methylxanthine unterbinden können. In unseren Versuchen hemmte Propranolol (10 mg/kg i.p.) die durch 60 mg/kg Theophyllin und Coffein ausgelösten Umsatzsteigerungen vollständig. Durch Steigerung der Theophyllindosis auf 180 mg/kg ließ sich die blockierende Wirkung von 10 mg/kg Propranolol wieder durchbrechen—ein Effekt, den wir in früheren Untersuchungen auch durch erhöhte Dosen von Katecholaminen erzielen konnten.²⁴

Diese vollständige Hemmung durch Propranolol steht in gewissem Gegensatz zu den Befunden an medullektomierten und reserpinisierten Tieren, bei denen ja ein Rest der stoffwechselsteigernden Effekte von 60 mg/kg Theophyllin und Coffein noch erhalten geblieben war. Hierfür sind zwei Erklärungen möglich. Einerseits muß man berücksichtigen, daß durch die Demedullierung zwar das Reserpin-resistente chromaffine Gewebe des Nebennierenmarks beseitigt wurde, nicht aber das (gegen Reserpin wahrscheinlich ebenfalls wenig empfindliche) extra-adrenale chromaffine Gewebe der Paraganglien. Muscholl und Vogt³⁴ haben aber nachgewiesen, daß Paraganglien *in vitro* Katecholamine freisetzen können. Auch *in vivo* scheint dem extramedullären chromaffinen System eine gewisse Bedeutung zuzukommen. Meßbare Mengen von Adrenalin wurden nämlich auch im Urin medullektomierter, reserpinisierter Ratten nachgewiesen,³⁵ und nach Kälteexposition fand man bei Ratten, die adrenaletomiert waren, eine vermehrte Ausscheidung von Adrenalin.³⁶

Möglicherweise beruht also die Stoffwechselsteigerung, die wir nach Theophyllin und Coffein an medullektomierten, reserpinisierten Ratten gesehen haben, auf einer Freisetzung von Katecholaminen aus dem extramedullären chromaffinen Gewebe. Die gesamte kalorigene Wirkung der Methylxanthine wäre dann als indirekt sympathisch anzusehen, was ihre vollständige Hemmbarkeit durch Propranolol gut erklären würde.

Andererseits wäre es aber denkbar, daß Propranolol in unspezifischer Weise auch

eine direkte kalorogene Wirkung der Methylxanthine zu verhindern vermag. Eine solche direkte Wirkung könnte auf einer durch Hemmung der Phosphodiesterase ausgelösten Akkumulation von 3',5'-AMP und der sich hieraus ergebenden Stimulierung der Glykogenolyse und Lipolyse beruhen. Jedoch ist eine unspezifische Hemmwirkung des Propranolols gegenüber Steigerungen des Energieumsatzes bisher nicht nachgewiesen worden: Propranolol hemmt weder die kalorogene Wirkung von Dinitrophenol³⁷ noch die der Schilddrüsenhormone.^{37, 38}

Insgesamt läßt sich auf Grund der vorliegenden Untersuchung nicht sicher sagen, ob die Methylxanthine neben der indirekt sympathischen auch eine direkte kalorogene Wirkung besitzen. Diese Frage stellt sich aber nur für die hohen Dosen von Theophyllin und Coffein. Bei den zu therapeutischen und Genußzwecken üblichen Mengen ist die kalorogene Wirkung der Methylxanthine, wie unsere Versuche mit 6-6 mg/kg Theophyllin und Coffein sowie auch frühere Untersuchungen mit oraler Applikation von Kaffee³⁹ gezeigt haben, sicher rein sympathischen Ursprungs.

Cockburn *et al.*,¹¹ die ebenfalls eine vollständige Hemmung der kalorigenen Wirkung von Theophyllin durch Propranolol gesehen haben, halten es für möglich, daß die durch Theophyllin induzierte Akkumulation von 3',5'-AMP an das Vorhandensein von endogenem Noradrenalin gebunden ist, Theophyllin also gewissermaßen nur durch Potenzierung von Noradrenalin wirksam wird. Propranolol und Reserpin würden dann durch Ausschaltung von Noradrenalin die Bildung von endogenem 3',5'-AMP soweit unterdrücken, daß eine Verminderung des Abbaus infolge Phosphodiesterasehemmung sich nicht mehr auswirken kann. Für diese Hypothese gibt es jedoch keinen Beweis. Hynie *et al.*²¹ haben im Gegenteil nachgewiesen, daß sich der durch Akkumulation von 3',5'-AMP verursachte Anstieg der freien Fettsäuren nach Theophyllin in gleichem Umfang an sympathektomierten Ratten wie an Kontrolltieren auslösen läßt. 3',5'-AMP kann also offenbar auch in Abwesenheit von Noradrenalin gebildet und akkumuliert werden. Die in unseren Versuchen fehlende Verstärkung der kalorigenen Wirkung von Adrenalin durch Theophyllin spricht ebenfalls gegen die Ansicht, daß die Methylxanthine den Energieumsatz durch eine Potenzierung endogener Katecholamine steigern. Sofern nämlich Theophyllin seine kalorigenen Effekte über eine Potenzierung endogener Katecholamine ausüben würde, müßte es auch die umsatzsteigernde Wirkung eines exogen zugeführten Katecholamins verstärken.

Die leichten Erhöhungen der Körpertemperatur, die wir nach Theophyllin und Coffein beobachtet haben, sind als Folge des gesteigerten Stoffwechsels anzusehen. Als eine (auch nur partielle) Ursache der Umsatzsteigerungen kommen sie nicht in Frage, da nach früheren Untersuchungen²³ Steigerungen der Körpertemperatur um 1-2° den äußeren Stoffwechsel narkotisierter Ratten nicht beeinflussen.

In den Versuchsgruppen, in denen der Energieumsatz stärker anstieg, kam es zu einem langsamen Abfall des respiratorischen Quotienten. Dies deutet auf eine zunehmende Beteiligung der Fette am Energieumsatz infolge sich erschöpfender Glykogenreserven hin. Der nur nach den hohen Dosen von Theophyllin beobachtete initiale Anstieg des RQ beruht wahrscheinlich auf einer vorübergehenden Hyperventilation infolge Stimulierung des Atemzentrums.

Die chronotropen Wirkungen der Methylxanthine wurden in unseren Versuchen durch Ausschaltung des Sympathicus abgeschwächt, jedoch nicht vollständig aufgehoben. Dies Ergebnis entspricht früheren Untersuchungen,²⁵ in denen wir gezeigt

haben, daß die durch Theophyllin und Coffein bei Ratten ausgelöste Tachykardie teilweise auf einer Freisetzung von Katecholaminen, teilweise aber auch auf der chronotropen Eigenwirkung der Methylxanthine beruht.

Abschließend sei noch auf die Versuche mit Propranolol an wachen Ratten eingegangen. Hier kam es—im Unterschied zu den Verhältnissen bei narkotisierten Tieren—nur zu einer partiellen Hemmung der durch Theophyllin und Coffein ausgelösten Kalorigenese. Propranolol verhinderte wahrscheinlich nur den Teil der Methylxanthin-Stoffwechselsteigerung, der sich auch an narkotisierten Ratten auslösen ließ, also nicht durch eine Motilitätssteigerung bedingt war.

ZUSAMMENFASSUNG

Die stoffwechselsteigernden (kalorigen) Wirkungen der Methylxanthine Theophyllin und Coffein wurden an Ratten durch indirekte Kalorimetrie bestimmt. 60 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein i.p. steigerten den O_2 -Verbrauch wacher Ratten um maximal 65 bzw. 62%, den narkotisierter Ratten dagegen nur um 38 bzw. 37% der Ausgangswerte. Die stoffwechselsteigernden Wirkungen der Methylxanthine sind deshalb bei wachen Ratten etwa zur Hälfte durch erhöhte Motilität bedingt.

Die Steigerungen des O_2 -Verbrauchs, die an narkotisierten Ratten nach 6-6 mg/kg Theophyllin bzw. Coffein i.p. auftraten, blieben nach Vorbehandlung mit Reserpin (2 mg/kg i.p.) vollständig aus. Die kalorigenen Wirkungen von 60 mg/kg Theophyllin oder Coffein bei narkotisierten Ratten ließen sich dagegen durch Reserpin allein überhaupt nicht und durch Reserpin in Kombination mit einer Medullektomie nur zu etwa zwei Dritteln verhindern. Propranolol (10 mg/kg i.p.) blockierte dagegen die Umsatzsteigerungen narkotisierter Ratten nach 60 mg/kg Theophyllin oder Coffein vollständig. Theophyllin (6-6 mg/kg i.p.) hatte keinen Einfluß auf die kalorogene Wirkung von Adrenalin (0-3 mg/kg i.p.).

Die Umsatzsteigerungen narkotisierter Ratten nach kleineren Dosen von Theophyllin und Coffein beruhen ausschließlich auf einer Freisetzung endogener Katecholamine, während an der kalorigenen Wirkung höherer Dosen neben der indirekt sympathischen möglicherweise auch eine kalorogene Eigenwirkung der Methylxanthine beteiligt ist.

LITERATUR

1. D. M. FOWEL, J. A. WINSLOW, V. P. SYDENSTRICKER and N. C. WHEELER, *Arch. int. Med.* **83**, 150 (1949).
2. I. STARR, C. J. GAMBLE, A. MARGOLIES, J. S. DONAL, N. JOSEPH and E. EAGLE, *J. clin. Invest.* **16**, 799 (1937).
3. J. H. MEANS, J. C. AUB and E. F. DU BOIS, *Arch. int. Med.* **19**, 832 (1917).
4. N. A. WOMACK and W. H. COLE, *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **31**, 1248 (1934).
5. H. HINDEMITH, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac.* **190**, 202 (1938).
6. J. HALDI, G. BACHMANN, C. ENSOR and W. WYNN, *J. Nutr.* **21**, 307 (1941).
7. F. HEIM und B. HAAS, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac.* **226**, 395 (1955).
8. S. SCHIMMEL, M. DYE und C. S. ROBINSON, *Z. Untersuch. Lebensmitt.* **57**, 576 (1929).
9. E. MEYER, *Z. Untersuch. Lebensmitt.* **69**, 563 (1935).
10. K. HORST, R. J. WILSON und R. G. SMITH, *J. Pharmac. exp. Ther.* **58**, 294 (1936).
11. F. COCKBURN, D. HULL and I. WALTON, *Br. J. Pharmac.* **31**, 568 (1967).
12. C. POYART and G. G. NAHAS, *Am. J. Physiol.* **212**, 1247 (1967).
13. O. STRUBELT und C.-P. SIEGERS, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. exp. Path.* **260**, 209 (1968).
14. A. F. DE SCHAEFDYVER, *Arch. int. Pharmacodyn.* **119**, 517 (1959).

15. G. KIEFER, Dissertation, Mainz 1964.
16. N. O. ATUK, M. C. BLAYDES, F. B. WESTERVELT and J. E. WOOD, *Circulation* **35**, 745 (1967).
17. L. LEVI, *Acta med. Scand.* **181**, 431 (1967).
18. S. ELLIS, *Pharmac. Rev.* **8**, 485 (1956).
19. J. HIMMS-HAGEN, *Pharmac. Rev.* **19**, 367 (1967).
20. R. W. BUTCHER and E. W. SUTHERLAND, *J. biol. Chem.* **237**, 1244 (1962).
21. S. HYNIE, G. KRISHNA and B. B. BRODIE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **153**, 90 (1966).
22. G. EVANS, *Am. J. Physiol.* **114**, 297 (1936).
23. O. STRUBELT, *Arzneimittel-Forsch.* **18**, 724 (1968).
24. O. STRUBELT, *Arzneimittel-Forsch.* **16**, 587 (1966).
25. O. STRUBELT, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. exp. Path.* **261**, 176 (1968).
26. T. W. RALL and T. C. WEST, *J. Pharmac. exp. Ther.* **139**, 269 (1963).
27. L. TRINER and G. G. NAHAS, *J. Pharmac. exp. Ther.* **153**, 569 (1966).
28. O. STRUBELT, *Arch. int. Pharmacodyn.* im Druck.
29. G. W. L. JAMES, *J. Pharm. Pharmac.* **19**, 797 (1967).
30. T. D. DARBY, J. H. SPROUSE and R. P. WALTON, *J. Pharmac. exp. Ther.* **122**, 386 (1958).
31. P. A. SHORE, *Pharmac. Rev.* **14**, 531 (1962).
32. B. A. CALLINGHAM and M. MANN, *Br. J. Pharmac.* **18**, 138 (1962).
33. O. STRUBELT und W. LUBENAU, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. exp. Path.* **255**, 353 (1966).
34. E. MUSCHOLL and M. VOGT, *Br. J. Pharmac.* **22**, 193 (1964).
35. A. M. BISCARDI, A. CARPI and O. A. ORSINGER, *Br. J. Pharmac.* **23**, 529 (1964).
36. J. LEDUC, *Acta physiol. scand.* **53**, Suppl. 183 (1961).
37. O. STRUBELT, *Arch. int. Pharmacodyn.*, im Druck.
38. R. W. WILSON, E. O. THEILEN, J. H. HEGE and M. R. VALENCA, *J. clin. Invest.* **45**, 1159 (1966).
39. O. STRUBELT und C.-P. SIEGERS, *Arzneimittel-Forsch.* **18**, 1278 (1968).