

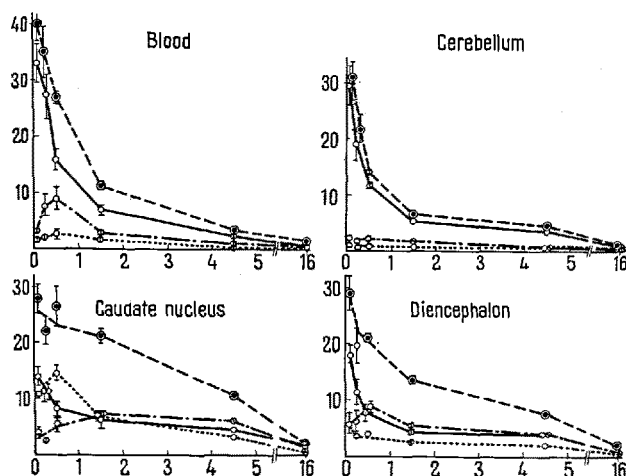
Topographical Differences in the Cerebral Metabolism of DL -2- ^{14}C -3,4-Dihydroxyphenylalanine

Catecholamines show irregular distribution in the brain of animals and humans. The hypothalamus and the caudate nucleus, for example, are relatively rich in norepinephrine and 3-hydroxytyramine (dopamine) respectively, whereas other brain areas (e.g. cortex, cerebellum) contain only low amounts of the amines¹⁻⁵. The reason for these topographical differences is not fully understood. Catecholamines do not penetrate the blood/brain barrier, except in a few areas (e.g. hypothalamus, hypothalamus)^{6,7}. The unequal accumulation of dopamine and dihydroxyphenyl acetic acid in various regions of rabbit brain found after injection of unlabelled 3,4-dihydroxyphenylalanine (dopa)^{8,9} might be explained by variations either in the metabolic pattern or in the penetration of dopa through the blood/brain barrier.

In the present paper, the penetration of dopa, the precursor of catecholamines, into the brain, as well as the cerebral metabolism of this amino acid, were investigated. For this purpose, the total radioactivity and the radioactivity of three metabolic fractions (amino acids, monoamines, and oxidation products, e.g. phenolcarboxylic acids) were measured in different parts of rabbit brain after administration of DL -2- ^{14}C -dopa.

Methods. Rabbits of both sexes, weighing about 2 kg and fasted for 12–16 h, received 1.5 mg/kg DL -2- ^{14}C -dopa (2.5–3.2 $\mu C/\mu M$ or 19–25 $\mu C/kg$) i.v. After various intervals, the animals were sacrificed by distortion of the neck, and the brain was chilled in ice-cold phosphate buffer pH = 7.4. $HClO_4$ -extracts of various brain regions and of total blood were hydrolyzed by 'glusulase' (enzyme mixture containing glucuronidase and sulphatase) and fractionated on two columns of Dowex 50-X4 (pH = 6.5 and H^+ -form respectively) as will be described elsewhere in detail¹⁰. The radioactivity was measured in a Packard liquid scintillation counter and calculated per g of fresh tissue and per ml of blood in % of the radioactivity injected.

Results (Figure and Table):



Characteristic differences of DL -2- ^{14}C -dopa metabolism in some brain areas and in blood of the rabbit. Ordinate: radioactivity per g tissue and ml blood resp. in % of the total DL -2- ^{14}C -dopa administered per g body weight. Abscissa: time in h after i.v. injection of DL -2- ^{14}C -dopa. ---- total radioactivity; — fraction of amino acids; fraction of amines; - - - - - fraction of phenolcarboxylic acids and other oxidation products. The points with vertical lines represent averages and standard error from 3–6 experiments. The points without vertical lines are single values.

Total radioactivity and quotients amines/amino acids (A/AA) as well as phenolcarboxylic acids/amino acids (PCA/AA)

Tissue	5 min		30 min		
	Total activity	A/AA	PCA/AA	A/AA	PCA/AA
Blood	38.9 $\pm$ 3.0	0.04	0.18	0.14	0.57
Cerebellum	32.2 $\pm$ 3.3	0.04	0.07	0.08	0.18
Cerebrum	28.2 $\pm$ 4.5	0.09	0.14	0.19	0.36
Med. oblongata	24.9 $\pm$ 2.8	0.38	0.34	0.51	0.86
Mesencephalon	29.0 $\pm$ 4.0	0.35	0.37	0.68	1.17
Diencephalon	29.2 $\pm$ 3.0	0.30	0.33	0.52	1.11
Caudate nucleus	27.9 $\pm$ 2.5	0.78	0.29	1.80	0.70

The total radioactivity is expressed in % of the administered radioactivity per g body weight. The quotients are calculated on the basis of the radioactivity of the fractions (amines, amino acids, phenolcarboxylic acids plus other oxidation products) from 1 g tissue.

(1) 5 min after i.v. administration of DL -2- ^{14}C -dopa to rabbits, the total radioactivity of the various brain parts is not significantly different ($p > 0.05$) and only slightly lower than in blood. Subsequent measurements show a marked variation in the rate of decrease of total radioactivity with the following order: cerebellum $\cong$ cerebrum $>$ medulla oblongata $\cong$ mesencephalon $\cong$ diencephalon $>$ caudate nucleus. After 16 h practically no radioactivity is present in blood and all the brain areas.

(2) The radioactivity of the amino acid fraction (consisting probably in the main of dopa) exhibits a maximum in all parts of the brain and in blood 5 min after DL -2- ^{14}C -dopa i.v. The activity is highest in blood, somewhat lower in both cerebellum and cerebrum, and lowest in medulla oblongata, diencephalon, and caudate nucleus.

(3) The radioactivity in the fractions of amines and phenolcarboxylic acids (including other oxidation products, e.g. phenol alcohols, phenol glycols) rises within 5–30 min in blood and brain. It remains elevated for several hours. Of all the brain parts the two fractions increase least in the cerebellum and cerebrum. The caudate nucleus shows the highest elevation of the amines, whereas in the di- and mesencephalon the phenolcarboxylic acids rise most markedly.

(4) The quotients amines/amino acids and phenolcarboxylic acids/amino acids show marked differences in the various brain regions. In the cerebellum and the cerebrum, the quotients are equal to that of blood or lower, whereas in the other brain parts they are higher. The caudate nucleus has by far the highest amine/amino acid quotient and both mesencephalon and diencephalon show the highest ratio phenolcarboxylic acids/amino acids.

¹ A. BERTLER and E. ROSENGREN, Acta physiol. scand. 47, 350 (1959).

² A. BERTLER, Acta physiol. scand. 51, 97 (1961).

³ A. BERTLER and E. ROSENGREN, Exper. 15, 382 (1959).

⁴ I. SANO, T. GANO, Y. KAKIMOTO, K. TANIGUCHI, M. TAKESADA, and K. NISHINOMA, Biochim. biophys. Acta 32, 586 (1959).

⁵ H. EHRINGER and O. HORNYKIEWICZ, Klin. Wschr. 38, 1236 (1960).

⁶ H. WEIL-MALHERBE, J. AXELROD, and R. TOMCHICK, Science 129, 1226 (1959).

⁷ J. AXELROD, H. WEIL-MALHERBE, and R. TOMCHICK, J. Pharmacol. 127, 251 (1959).

⁸ E. ROSENGREN, Acta physiol. scand. 49, 370 (1960).

⁹ A. CARLSSON and N.-A. HILLARP, Acta physiol. scand. 55, 95 (1962).

¹⁰ K. F. GEY and A. PLETSCHE, in preparation.

Discussion. Dopa is probably taken up to a similar degree by the various brain areas. This may be concluded from the above results demonstrating that 5 min after i.v. injection of DL -2- ^{14}C -dopa the different brain parts show similar total radioactivity. Earlier findings, according to which catecholamines and phenolcarboxylic acids do not penetrate the blood/brain barrier in most regions^{6,7,9}, support this hypothesis.

The different intensity of radioactivity in the three fractions (amino acids, amines, phenolcarboxylic acids) as well as the different slope of the total radioactivity (Figure) show, however, that dopa is metabolized unequally in various brain areas. In the cerebellum and cerebrum the quotient amines/amino acids and phenolcarboxylic acids/amino acids is very low, indicating a minimal turnover. On the contrary, in caudate nucleus, di- and mesencephalon, these quotients are rather high, indicating extensive dopa decarboxylation (Table). This latter assumption is supported by the finding that in several species (cat, dog, pig) the activity of dopa-decarboxylase decreases in the order caudate nucleus > mesencephalon = diencephalon > medulla oblongata > cerebellum = cerebrum^{1,11,12}.

The metabolic pattern of the caudate nucleus seems to differ from that of the di- and mesencephalon, since in the former the amount of amines is higher than that of phenolcarboxylic acids, whereas in the di- and mesencephalon the phenolcarboxylic acids rather exceed the amines. In the caudate nucleus the newly formed amines might either be partly protected from further metabolic transformation (e.g. by storage) or the formation of the amines is possibly more rapid than their metabolism.

It may therefore be concluded that the variable distribution of catecholamines in the brain is rather due to a different metabolism of dopa in various brain areas than to differences in the uptake of dopa and catecholamines.

Zusammenfassung. In verschiedenen Hirnteilen des Kaninchens wurde nach i.v.-Injektion von DL -2- ^{14}C -3,4-Dihydroxyphenylalanin (^{14}C -Dopa) die Radioaktivität der Fraktionen der aromatischen Aminosäuren, der Amine und der Oxydationsprodukte (z.B. Phenolcarbonsäuren) bestimmt. Klein- und Grosshirn enthielten relativ viel ^{14}C -Aminosäuren (wahrscheinlich vorwiegend Dopa) und wenig ^{14}C -Amine und -Phenolcarbonsäuren. Im Mes- und Diencephalon waren relativ viel ^{14}C -Oxydationsprodukte nachweisbar, während der Nucleus caudatus den höchsten ^{14}C -Amingehalt aufwies. Diese Abweichungen sind wahrscheinlich durch einen unterschiedlichen Dopa-Stoffwechsel bedingt, da die Total-Radioaktivität der einzelnen Hirnregionen 5 min nach der Injektion von ^{14}C -Dopa keinen signifikanten Unterschied aufwies.

A. PLETSCHER and K. F. GEY

Medizinische Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co., A. G., Basel (Switzerland), August 10, 1962.

¹¹ D. F. BOGDANSKI, H. WEISSBACH, and S. UDENFRIEND, J. Neurochem. 1, 272 (1957).

¹² R. KUNTZMAN, P. A. SHORE, D. BOGDANSKI, and B. B. BRODIE, J. Neurochem. 6, 226 (1961).

Weitere Untersuchungen über die Wirksamkeit von Oxytryptaminderivaten im Strahlenschutzversuch

In vorangehenden Versuchen haben wir eine Reihe verschieden substituierter Oxytryptamine auf ihre Schutzwirkung gegenüber Röntgenstrahlen geprüft und dabei eine hohe Spezifität der Serotoninstruktur festgestellt¹. Immerhin erwiesen sich uns auch 5-Hydroxy- ω -N-monomethyl-tryptamin und besonders 5-Methoxy-tryptamin als wirksame Schutzstoffe. Die Ergebnisse einer ähnlichen Untersuchung von SUPEK, RANDIĆ und LOVAŠEN² an der Ratte stimmen mit den unsrigen, an Mäusen gewonnenen gut überein.

Aus der Beobachtung, dass ein Strahlenschutz durch verschiedene Oxytryptamine – ohne quantitative Parallelität zu ihren anderen pharmakologischen Eigenschaften – auch in sauerstoffunabhängigen Modellversuchen nachweisbar ist und andererseits *in vivo* durch kleine Konzentrationen eines Serotoninantagonisten aufgehoben werden kann, schlossen wir, dass weder indirekte physiologische Effekte (z. B. Vasokonstriktion) noch eine Neutralisierung freier Wasserradikale den strahlenbiologischen Wirkungsmechanismus des Serotonins und seiner Verwandten hinreichend erklären können³.

Es schien uns in der Folge nützlich zu prüfen, ob durch den Serotoninantagonisten Deseril (1-Methyl- D -Lysergäure-Butanolamid Sandoz) nicht auch andere Klassen von Schutzstoffen in ihrer Wirkung beeinträchtigt werden. Ferner haben wir sechs weitere Oxytryptaminderivate im Strahlenschutzversuch getestet.

Material und Methode. 1100, 10–12 Wochen alte, weibliche weisse Mäuse eines Inzuchtstammes des pharmakologischen Laboratoriums der Sandoz AG⁴ mit einem Durchschnittsgewicht von 17 g erhielten eine einmalige Ganzkörperbestrahlung von 600 (= $DL_{95,30}$) bzw. 750 r unter den folgenden Bedingungen: Röntgenapparat Siemens Stabilipan, 200 kV, 20 mA, 0,5 mm Cu-Filter, Abstand Fokus-Tier 50 cm, Feldgrösse 17×17 cm. Je 10 Tiere wurden zusammen in einem Kästchen mit Perspexdeckel und Seitenwänden von 4 cm Buchenholz bestrahlt. Die Dosisleistung in der Mitte des Käfigs betrug 112 r/min⁵.

Jeweils 0,2 ml der fraglichen Substanz wurde den Tieren in einem bestimmten zeitlichen Abstand vor der Bestrahlung intraperitoneal oder subkutan injiziert. Keines der Präparate erwies sich in den von uns verwendeten Dosen als toxisch. Alle Tiere erhielten überdies während der ersten 10 Tage nach der Bestrahlung 0,2 mg Reverin s.c./Tag, um unspezifische Infektionen zu verhindern. Die regelmässige Wartung der Tiere war garantiert. Als Kriterium der Schutzwirkung diente die mittlere

¹ P. DUKOR und R. SCHUPPLI, Exper. 17, 257 (1961).

² Z. SUPEK, M. RANDIĆ und Ž. LOVAŠEN, Int. J. Rad. Biol. 4, 111 (1961).

³ P. DUKOR, Strahlentherapie 117, 330 (1962).

⁴ Das Tiermaterial sowie alle Oxytryptaminverbindungen, über die hier berichtet wird, wurden uns freundlicherweise vom Pharmakologischen Laboratorium der Sandoz AG Basel zur Verfügung gestellt.

⁵ Die Bestrahlungen konnten dank dem Entgegenkommen von Herrn Prof. E. ZDANSKY im Basler Universitäts-Röntgeninstitut vorgenommen werden.