

Aufnahme von α -Methyldopamin und α -Methylnoradrenalin in die Noradrenalin speichernden Herzgranula

Vorbehandlung mit α -Methyldopa und α -Methyldopamin führt zu einer Noradrenalinverarmung des Herzens¹, wobei die freigesetzten Noradrenalinmengen durch das gebildete α -Methylnoradrenalin quantitativ ersetzt werden²⁻⁶. In einer früheren Arbeit konnten wir zeigen, dass auch das isoliert durchströmte Herz des Meerschweinchens in der Lage ist, in relativ kurzer Zeit aus den methylierten Vorstufen, α -Methyldopam und α -Methyldopamin, α -Methylnoradrenalin zu synthetisieren; die Bildung und Speicherung von α -Methylnoradrenalin ist jedoch in vitro nicht von einer Verminderung des Noradrenalingerhaltes des Herzens begleitet. Auch die bei der Durchströmung mit α -Methylnoradrenalin aufgenommenen Mengen dieses Amins führen zu keiner entsprechenden Abnahme des Noradrenalingerhaltes⁷. Um festzustellen, ob die schon nach kurzer Durchströmungszeit aufgenommenen Amine α -Methyldopamin und α -Methylnoradrenalin in den spezifischen Noradrenalin-Granula des Herzens gespeichert werden, haben wir Herzen mit diesen beiden methylierten Verbindungen durchströmt und ihre subzelluläre Verteilung sowie diejenige des endogenen Noradrenalins untersucht.

Methoden. (1) Durchströmung isolierter Kaninchenherzen: wie früher beschrieben⁷ nach Langendorff. 20 min nach Beginn der Durchströmung wurden α -Methyldopamin bzw. α -Methylnoradrenalin 60 min lang kontinuierlich infundiert. Nach der Infusion wurde die Durchströmung mit Tyrodelösung für 5 min fortgesetzt, um in dem Extrazellulärraum unspezifisch aufgenommene methylierte Amine zu entfernen. Dementsprechend wurden die Kontrollherzen 85 min lang durchströmt. Nach der Durchströmung wurden die Herzen homogenisiert⁸. Durch Differentialzentrifugieren wurden 4 verschiedene Fraktionen gewonnen: Sediment 1000 g 20 min, 14000 g 20 min und 66000 g 75 min, Überstand 66000 g. Rückstände und Überstand wurden mit Perchlorsäure extrahiert⁸, im Überstand Noradrenalin und α -Methyldopamin nach v. Euler und Floding⁹, α -Methylnoradrenalin nach Schümann, Grobecker und Schmidt⁵ bestimmt. Die Rückstände wurden zur Trockengewichtsbestimmung in Äthanol aufgenommen und über Nacht bei 70°C getrocknet.

(2) Inkubation isolierter Herzgranula: Granula aus Meerschweinchenherzen wurden durch Differentialzentrifugieren (60 min 100000 g) gewonnen⁸ und in Saccharose-Phosphat-Puffer inkubiert. Sowohl die 0 min Kontrollen als auch die Inkubate wurden sofort bzw. nach der Inkubation abzentrifugiert, der granuläre Rückstand einmal mit 8 ml Saccharose-Phosphat-Puffer gewaschen, erneut zentrifugiert und mit 0,4 n Perchlorsäure extrahiert. Die Amine wurden im Überstand wie oben beschrieben bestimmt, die Rückstände in Äthanol aufgenommen und über Nacht bei 70°C getrocknet.

dl- α -Methyldopamin-HCl (Farbenfabriken Bayer) und *l*- α -Methylnoradrenalin-HCl (Farbwerke Hoechst) wurden verwendet.

Versuche. Nach der 85 min langen Durchströmung enthalten die Fraktionen 1 und 2 der Kontrollherzen relativ wenig, unspezifisch gespeichertes Noradrenalin (Tabelle). Die grösste Noradrenalinmenge, 57% des Gesamtgehaltes, enthält die Granulafraktion 3, die Fraktion 4, die dem Zytoplasma entspricht, 24%. Eine 60 min lange Infusion mit 300 μ g/min α -Methyldopamin verursacht eine Erhöhung des Noradenalingerhaltes aller partikulären Fraktionen. Gleichzeitig findet man eine spezifische Verteilung der aufgenommenen α -Methyldopamimengen, wobei die Granulafraktion 3 47% und das Zytoplasma (Fraktion 4) 39% des Gesamtgehaltes besitzen und ferner eine hochspezifische Verteilung des während der Infusion gebildeten α -Methylnoradrenalins; die Granulafraktion 3 enthält nämlich 80% des gesamten α -Methylnoradenalingerhaltes. Bei der Infusion mit 1,8 μ g/min α -Methylnoradrenalin sind die Noradrenalinwerte der verschiedenen Fraktionen

¹ C. C. PORTER, J. A. TOTARO und C. M. LEIBY, J. Pharmac. exp. Ther. 134, 139 (1961).

² A. CARLSSON und M. LINDQUIST, Acta physiol. scand. 54, 87 (1962).

³ L. MAITRE und M. STAHELIN, Exper. 79, 573 (1963).

⁴ R. LINDMAR und E. MUSCHOLL, Arch. exp. Path. Pharmak. 249, 529 (1965).

⁵ H. J. SCHÜMANN, H. GROBECKER und K. SCHMIDT, Arch. exp. Path. Pharmak. 251, 48 (1965).

⁶ A. PHILIPPU und H. J. SCHÜMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. 251, 160 (1965).

⁷ A. PHILIPPU und H. J. SCHÜMANN, Life Sci. 4, 2039 (1965).

⁸ H. J. SCHÜMANN, K. SCHNELL und A. PHILIPPU, Arch. exp. Path. Pharmak. 249, 251 (1964).

⁹ U. S. v. EULER und J. FLODING, Acta physiol. scand. 45, 122 (1959).

Isolierte Kaninchenherzen. Subzelluläre Verteilung von Noradrenalin, α -Methyldopamin und α -Methylnoradrenalin bei Durchströmung mit α -Methyldopamin bzw. α -Methylnoradrenalin

Fraktion	Noradrenalin				α -Methyldopamin				α -Methylnoradrenalin			
	n Mol/g Trockengewicht				n Mol/g Trockengewicht				n Mol/g Trockengewicht			
	1 1000 g	2 14000 g	3 66000 g	4 Überst.	1 1000 g	2 14000 g	3 66000 g	4 Überst.	1 1000 g	2 14000 g	3 66000 g	4 Überst.
Kontrollen <i>n</i> = 5	2,48 ± 0,82	29,70 ± 8,69	99,88 ± 25,79	41,65 ± 7,92								
α -Methyldopamin 300 μ g/min, 60 min <i>n</i> = 3	6,80 ± 1,95	38,81 ± 9,76	203,13 ± 26,29	26,62 ± 10,82	10,00 ± 0,54	48,98 ± 9,04	205,15 ± 50,45	167,90 ± 48,14	0	19,89 ± 1,31	98,46 ± 16,61	4,64 ± 1,40
α -Methylnoradrenalin 1,8 μ g/min, 60 min <i>n</i> = 3	3,60 ± 0,54	26,21 ± 10,23	107,04 ± 47,69	42,89 ± 8,63					8,30 ± 0,76	66,88 ± 8,57	267,15 ± 74,15	124,26 ± 6,50

Mittelwerte und deren mittlere Fehler.

etwa gleich gross wie diejenigen der Kontrollherzen. α -Methylnoradrenalin wird auch in diesem Fall hauptsächlich, zu 57%, in der Granulafraktion 3 des Herzens gespeichert.

Die hohen Noradrenalinmengen der partikulären Fraktionen, insbesondere der Granulafraktion 3, nach Durchströmung mit α -Methyldopamin könnten entweder auf eine Hemmung der spontanen Freisetzung aus den

Granula ins Zytosplasma oder aber auf eine Beeinträchtigung des Noradrenalinabbaus durch die grossen α -Methyldopaminmengen zurückgeführt werden. Wir haben deshalb die Wirkung der beiden methylierten Brenzcatechamine auf die spontane Noradrenalinfreisetzung isolierter Herzgranula von Meerschweinchen geprüft.

Bei der 45 min langen Inkubation der Herzgranula bei 22°C werden spontan etwa 50% ihres Noradrenalingehaltes freigesetzt (Figur 1) 0,5 bis 4,0 μMol α -Methyldopamin pro ml Inkubationsflüssigkeit verursachen nur eine geringe Hemmung der spontanen Noradrenalinfreisetzung, obwohl bis zu 170 nMol α -Methyldopamin in die Granula aufgenommen werden. Diese hohe α -Methyldopaminaufnahme ist nur zu einem Teil temperaturabhängig, da etwa 62% der gesamten α -Methyldopaminaufnahme schon bei dem 60 min langen Zentrifugieren (4°C) stattfindet. Es ist demnach nicht wahrscheinlich, dass die bei der Infusion von α -Methyldopamin beobachteten hohen Noradrenalinmengen der partikulären Fraktionen nur auf eine Hemmung der spontanen Noradrenalinfreisetzung zurückgeführt werden kann, sondern dass der hohe Noradrenalingehalt hauptsächlich auf einer Beeinträchtigung des Noradrenalinabbaus beruht.

Im Gegensatz zu der durch α -Methyldopamin verursachten geringfügigen Verminderung der spontanen Noradrenalinfreisetzung aus den isolierten Herzgranula ruft die Zugabe von α -Methylnoradrenalin in das Inkubationsmedium eine dosisabhängige Hemmung der spontan erfolgenden Noradrenalinabgabe hervor (Figur 2), 2,0 μMol dieses Amins pro ml Inkubationsflüssigkeit hemmen die Noradrenalinfreisetzung vollständig, während 43 nMol α -Methylnoradrenalin in die Granula aufgenommen werden. Wie α -Methyldopamin so wird auch α -Methylnoradrenalin zu 59% während des Zentrifugierens bei 4°C in die Granula aufgenommen.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dass α -Methyldopamin und α -Methylnoradrenalin weder die Granulafraktion noch die anderen partikulären Herzfraktionen an Noradrenalin verarmen. Der *in vivo* beobachtete quantitative Ersatz des Noradrenalins durch das α -Methylnoradrenalin erfolgt daher sehr wahrscheinlich durch Kompetition der α -methylierten Vorstufen mit den körpereigenen Vorstufen, so dass anstatt Noradrenalin praktisch nur α -Methylnoradrenalin gebildet wird. Da die Infusionszeit bei unseren Versuchen *in vitro* nur 60 min betrug, kann eine Beeinträchtigung der Noradrenalin synthese nicht zu einer messbaren Verminderung des Noradrenalingehaltes der Herzen führen.

Für die Annahme, dass die methylierten Amine nicht durch Verdrängung, sondern durch Beeinträchtigung der Noradrenalin synthese eine Hormonverarmung verursachen, sprechen auch die Versuche an isolierten Herzgranula, aus denen weder durch α -Methyldopamin noch durch α -Methylnoradrenalin die Noradrenalinfreisetzung gesteigert wird.

Summary. Perfusion of isolated hearts and incubation of isolated heart granules with α -methyl-dopamine or -noradrenalin caused an uptake of both amines into the granular fraction whereby the noradrenalin content of the granules remained unchanged.

A. PHILIPPU und H. J. SCHÜMANN¹⁰

Pharmakologisches Institut, Klinikum Essen der Universität Münster, Essen (Deutschland),
30. Juli 1965.

¹⁰ Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

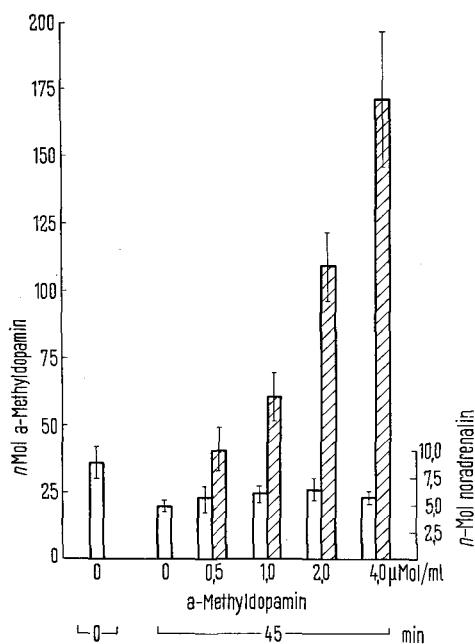


Fig. 1. Isolierte Meerschweinchenherz-Granula: Einfluss der α -Methyldopaminaufnahme [■] auf den Noradrenalingehalt [□] bei der Inkubation (22°C) mit α -Methyldopamin. Mittelwerte von 4 Versuchen und deren mittlere Fehler.

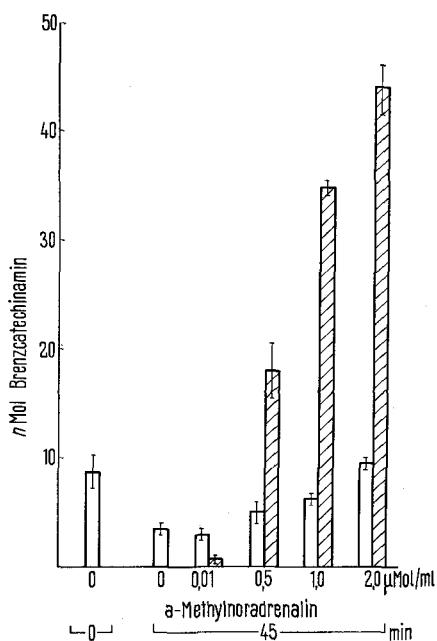


Fig. 2. Isolierte Meerschweinchenherz-Granula: Einfluss der α -Methylnoradrenalin aufnahmen [■] auf den Noradrenalingehalt [□] bei der Inkubation (22°C) mit α -Methylnoradrenalin. Mittelwerte von 4 Versuchen und deren mittlere Fehler.