

Zur peripheren sympathikusemmenden Wirkung des Clonidins

Das neue Antihypertensivum Clonidin (Catapresan®, ST 155) senkt den Blutdruck und verlangsamt den Herzschlag durch eine zentrale Dämpfung des Sympathikotonus¹⁻⁴. Wir haben kürzlich gezeigt, dass es ausserdem schon in niedrigen Konzentrationen die Funktion peripherer sympathischer Nerven hemmt: es vermindert die positiv chronotrope und inotrope Reaktion und die Noradrenalinausschüttung isolierter Kaninchenherzen bei postganglionärer elektrischer Sympathikusreizung⁵. Im Intrakutantest am Meerschweinchen wirkt Clonidin 1,75-mal so stark lokalanästhetisch wie Procain¹. Lokalanästhetika reduzieren ebenfalls die Antworten auf elektrische Stimulierung sympathischer Nerven^{6,7}. Um die Beziehung zwischen lokalanästhetischer und peripher antiadrenerger Wirkung zu klären, haben wir an isolierten Kaninchenherzen mit erhaltenen sympathischen Nerven Clonidin, Tetracain und Procain verglichen.

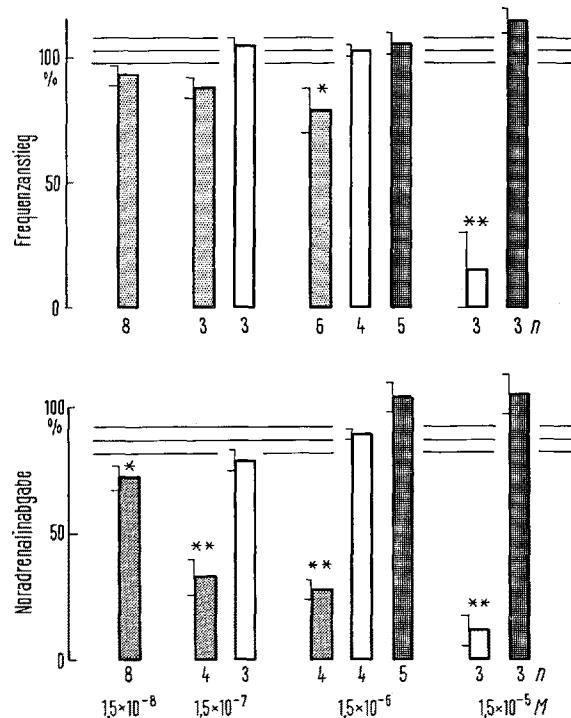
Methoden. Die Herzen wurden nach Huković und Muscholl⁶ präpariert. Die Coronargefäße wurden bei 34°C mit einem konstanten Volumen von 25 ml/min einer Nährösung folgender Zusammensetzung durchströmt (g/l): NaCl 8,0; KCl 0,2; CaCl₂ 0,2; MgCl₂ 0,1; NaHCO₃ 1,0; NaH₂PO₄ 0,05; Glukose 1,0; Ascorbinsäure 0,01; Dinatrium-EDTA 0,01; begast mit einem Gemisch von 95% O₂ und 5% CO₂. Die Kontraktionen des Herzens wurden mittels eines an der Herzspitze befestigten Fadens und eines Dehnungsmeßstreifens auf einem Hellige-Multiscriptor registriert; die Impulse wurden zugleich einem Pulsfrequenzmesser eingegeben.

Nach 30 min Vordurchströmung wurden die sympathischen Nerven zum ersten Mal gereizt (R₁), und zwar die der rechten und linken Seite in 15-sec-Perioden abwechselnd, zusammen 1 min lang (5 Hz, 3 msec, 8 mA). Vom Beginn der Reizung an wurde das Perfusat 2 min lang aufgefangen. Da am Ende dieser Zeit die Noradrenalinabgabe wieder auf den Ruhewert zurückgekehrt ist, erfasst die Sammlung die gesamte durch die Stimulation hervorgerufene Mehrabgabe des Transmitters⁸. Zwei gleichartige Reiz- und Sammelperioden folgten in Abständen von 15 min (R₂, R₃). Von 10 min vor R₂ bis zum Ende der zweiten Sammelperiode wurde das zu untersuchende Agens in die Aortenkanüle infundiert. Noradrenalin wurde in den Perfusaten nach Reinigung durch Adsorption an Aluminiumoxid fluorimetrisch bestimmt⁹.

Ergebnisse. Am nicht stimulierten Herzen verminderten Procain und Tetracain Kontraktionskraft und Frequenz; dies war bei der höchsten verwendeten Konzentration von Procain, $1,5 \times 10^{-5} M$, nur angedeutet, bei der gleichen Konzentration von Tetracain dagegen stark ausgeprägt und verbunden mit partielllem Block der atrioventrikulären Überleitung. Auch Clonidin senkte in der höchsten untersuchten Konzentration, $1,5 \times 10^{-5} M$, die Schlagfrequenz, die Kontraktionskraft dagegen wurde geringfügig gesteigert. Durch keinen der drei Stoffe wurde die *Ruheabgabe* von Noradrenalin ins Perfusat messbar verändert. Bei der Berechnung der reizbedingten Noradrenalinabgabe blieb die sehr geringe Ruheabgabe unberücksichtigt.

Reizung der sympathischen Nerven führte zu Kraft- und Frequenzanstieg und Ausschüttung von Noradrenalin. Diese Reaktionen schwankten von Herz zu Herz sehr, die Noradrenalinabgabe bei R₁ beispielsweise zwischen 26 und 150 ng. Die Wirkungen der drei Reizperioden jedes einzelnen Versuches hingegen waren gut vergleichbar. Um die Variation zwischen den Herzen auszuschalten, wurden für jeden Versuch die Reizwirkungen bei R₂, also in Gegenwart der zu testenden Stoffe, in Prozent der Wirkungen bei R₁ ausgedrückt.

In Kontrollexperimenten ohne zusätzliche Infusion betrug die Aminabgabe bei R₂ $87,8 \pm 4,8\%$ von R₁, der Frequenzanstieg $102,9 \pm 4,6\%$, der Anstieg der Kontraktionskraft $92,7 \pm 10,4\%$. Bereits durch $1,5 \times 10^{-8} M$ Clonidin wurde die Noradrenalinabgabe signifikant reduziert (Figur), noch stärker durch $1,5 \times 10^{-7} M$; über diese Hemmung ging die durch $1,5 \times 10^{-6} M$ nicht wesentlich hinaus. $1,5 \times 10^{-5} M$ Tetracain beeinflusste die Aminabgabe nicht, $1,5 \times 10^{-5} M$ blockierte sie fast völlig.



Wirkung von Clonidin (■ Säulen), Tetracain (weiße Säulen) und Procain (▨ Säulen) auf die Noradrenalinabgabe und den Frequenzanstieg isolierter Kaninchenherzen bei Sympathikusreizung. Die Reaktionen bei der zweiten Reizperiode, in Gegenwart der Pharmaka, sind in Prozent der Reaktionen bei der ersten Reizperiode, vor Infusion der Pharmaka, ausgedrückt. $\bar{x} \pm s_{\bar{x}} \cdot n$ = Zahl der Versuche. n ist für Noradrenalinabgabe und Frequenzanstieg nicht immer identisch, da zuweilen ein Versuch für einen der beiden Parameter nicht auswertbar war. Als horizontale Linien eingezeichnet $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ der unbehandelten Kontrollen ($n = 10$). Signifikante Unterschiede von den Kontrollen: *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$ (*t*-Test).

¹ W. HOEFKE und W. KOBINGER, Arzneimittel-Forsch. 16, 1038 (1966).

² W. KOBINGER, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 258, 48 (1967).

³ P. A. VAN ZWIETEN, Klin. Wschr. 46, 77 (1968).

⁴ H. SCHMITT und H. SCHMITT, Eur. J. Pharmac. 6, 8 (1969).

⁵ U. WERNER, K. STARKE und H. J. SCHÜMANN, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 266, 474 (1970).

⁶ S. HUKOVIC und E. MUSCHOLL, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 244, 81 (1962).

⁷ I. S. DE LA LANDE und M. J. RAND, Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 43, 639 (1965).

⁸ K. STARKE, U. WERNER und H. J. SCHÜMANN, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 265, 170 (1969).

⁹ U. S. VON EULER und I. FLODING, Acta physiol. scand. 33, Suppl. 118, 45 (1955).

Procain bewirkte eher eine Steigerung der Transmitterabgabe, die aber nicht signifikant war. Mit der Beeinflussung der Noradrenalinabgabe ging eine gleichsinnige Beeinflussung der positiv chronotropen Reizwirkung einher (Figur). Doch wurde der Frequenzanstieg signifikant erst durch $1,5 \times 10^{-6} M$ Clonidin gehemmt. Die nicht eingezeichnete positiv inotrope Wirkung wurde analog modifiziert. Nach Beendigung der Infusionen und 13minütiger Durchströmung mit reiner Nährösung lagen Noradrenalinabgabe, Frequenz- und Amplitudenanstieg bei R₃ wieder im Bereich der unbehandelten Kontrollen.

Diskussion. Die Reaktionen des isolierten Kaninchenherzens auf elektrische Stimulierung der postganglionären sympathischen Nerven werden durch $1,5 \times 10^{-6} M$ Procain und Tetracain nicht vermindert, ebensowenig durch $1,5 \times 10^{-5} M$ Procain, während sie durch $1,5 \times 10^{-5} M$ Tetracain fast beseitigt werden. Von Clonidin dagegen, das als Infiltrations-Anästhetikum 1,75 mal so stark wie Procain¹, damit aber erheblich schwächer ist als Tetracain¹⁰, ist nur der tausendste Teil dieser Konzentration erforderlich, $1,5 \times 10^{-8} M$, um die Noradrenalinabgabe bei Sympathikusreizung signifikant zu hemmen. Diese Versuche schliessen nicht aus, dass die peripheren antiadrenergen Wirkungen des Clonidins und des Tetracains auf dem gleichen, nämlich «lokalanästhetischen», Mechanismus beruhen; ebensowenig kann bisher ausgeschlossen werden, dass die Blockade adrenerger Neurone durch Propranolol¹¹ oder durch Guanethidin, Bretylium und Verwandte¹² im Detailmechanismus lokalanästhetisch ist. Die postganglionären sympathischen Nerven wären dann aber gegenüber Clonidin um mehrere Zehnerpotenzen empfindlicher als gegenüber anderen an sensiblen oder motorischen Nerven gleich oder sogar stärker wirksamen Lokalanästhetika; oder Clonidin hätte einen besonders günstigen Zugang zu sympathischen Fasern. Die Hemmwirkung des Clonidins tritt bei Konzentrationen ein, die die Kontraktionskraft und Frequenz nicht verändern; die des Tetracains erst bei einer stark kardio-depressiven Konzentration.

Dass die positiv chronotrope Reizwirkung durch Clonidin verhältnismässig weniger beeinträchtigt wird als die Noradrenalinabgabe, mag dazu beitragen, dass der periphere Angriffspunkt des Clonidins meist übersehen wurde. KOBINGER² fand nur eine geringe Abschwächung der durch N. accelerans-Reizung verursachten Frequenzsteigerung bei Katzen und keinen Anhaltspunkt für eine «spezifische adrenerge Neuronenblockade». Neuerdings

zeigten aber in Übereinstimmung mit unseren Befunden SCRIBABINE et al.¹³, dass beim Hund Clonidin die Herzfrequenz durch eine Wirkung auf postganglionäre sympathische Nerven senkt und die Beschleunigung bei Accelerans-Reizung inhibiert. Blockiert wurde auch die elektrisch induzierte Kontraktion und Acetylcholinabgabe des isolierten Meerschweinchen-Ileums¹⁴. Die Hemmung adrenerger und cholinergischer Neurone in niedrigen Konzentrationen rückt das Clonidin in pharmakologische – wie chemische – Nähe zu dem «adrenergisch-cholinergischen Neuronenhemmstoff» 2-(2,6-Dimethyl-phenylamino)-4H-5,6-dihydro-1,3-thiazin^{15,16}.

Summary. The influences of clonidine, tetracaine and procaine on the effects of electrical stimulation of the postganglionic sympathetic cardiac nerves have been compared in the isolated perfused rabbit heart. Much lower concentrations of clonidine than of tetracaine were necessary to antagonize the output of noradrenaline and the rise of frequency and contractility. Procaine even in the highest concentration tested did not inhibit the effects of nerve stimulation. In addition to its known central depression of sympathetic tone, clonidine exerts a specific inhibitory action on postganglionic sympathetic neurons.

K. STARKE und H. J. SCHÜMANN

Pharmakologisches Institut,
Klinikum Essen der Ruhr-Universität,
D-43 Essen (Deutschland), 27. August 1970.

¹⁰ F. P. LUDUENA und J. O. HOPPE, J. Pharmac. exp. Ther. 117, 89 (1966).
¹¹ M. D. DAY, D. A. A. OWEN und P. R. WARREN, J. Pharm. Pharmac. 20, 130S (1968).
¹² A. L. A. BOURA und A. F. GREEN, Ann. Rev. Pharmac. 5, 183 (1965).
¹³ A. SCRIBABINE, J. STAVORSKI, H. C. WENGER, M. L. TORCHIANA und C. A. STONE, J. Pharmac. exp. Ther. 171, 256 (1970).
¹⁴ A. SCRIBABINE und J. M. STAVORSKI, Fedn. Proc. 29, 273 Abs. (1970).
¹⁵ G. KRONEBERG, A. OBERDORF, F. HOFFMEISTER und W. WIRTH, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 256, 257 (1967).
¹⁶ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Fr. B. RAWE danken wir für ihre sehr sorgfältige technische Mitarbeit.

The Effects of Intracerebrally Administered RNA, Tubercidin and Histones on Learning in Rats

There is now considerable agreement that extracerebrally administered RNA has no effect on learning in rodents^{1,2}. No assessment, however, is available as to the effect and distribution of intracerebrally administered RNA. This was examined along with possible effects of Tubercidin and lysine- and arginine-rich histone fractions on the learning of rats in a shuttle-box avoidance situation.

Materials and methods. Yeast RNA (Pabst) or ¹⁴C-RNA (Schwartz) was used as purchased or purified and dialyzed according to the method of CRESTFIELD et al.³. Tubercidin (7-deazaadenosine) (TU) was provided by Upjohn Pharmaceutical Company. The lysine- and arginine-rich histone fractions from calf brain cerebellum were prepared, purified, and identified according to JOHNS⁴. Samples of ¹⁴C-RNA from tissues⁵ were dissolved

in NCS reagent (Amersham-Searle) and radioactivity determined by liquid scintillation counting.

Unanesthetized rats received intracerebral (i.c.) injections through small capped cannulae implanted at a depth of 1 mm into the right cortex 3.5 mm from both the sagittal and coronal sutures. The recovery period

¹ J. GAITO, *Macromolecules and Behavior* (Appleton-Century Crafts and Meredith Publishing Co., New York 1966).
² S. S. BOGOCH, *Biochemistry of Memory* (Oxford University Press, New York 1968).
³ A. M. CRESTFIELD, K. C. SMITH und F. W. ALLEN, J. biol. Chem. 216, 185 (1955).
⁴ E. W. JOHNS, Biochem. J. 92, 55 (1964).
⁵ W. C. SCHNEIDER, J. biol. Chem. 161, 293 (1945).