

suchsansatz untersucht, um Interaktionen an der Nukleotidbindungsstelle des Enzyms zwischen den Nukleotiden (ATP, GTP, Gpp(NH)p) und Mg^{2+} zu erkennen. Untersucht wurde das Verhalten des nicht hydrolysierbaren Nukleotids Gpp(NH)p, das die Adenylatzyklase stärker stimuliert als die natürlich vorkommenden Nukleotide GTP und ATP. Um einen Wirkvergleich zu erhalten, wurden für die Nukleotide gleiche Konzentrationen gewählt (10 μM). Es zeigt sich, daß die Nukleotide ATP und GTP das Enzym nicht über die basale bzw. die durch unterschiedliche Mg^{2+} -Konzentrationen induzierte Aktivität steigern bzw. hemmen, während die Aktivitätsänderungen durch Gpp(NH)p und Mg^{2+} sich addieren (Abb. 3).

Unabhängig von der Nukleotidwirkung zeigt Mg^{2+} an der Adenylatzyklase einen eigenen und organspezifischen Wirkmechanismus.

Diskussion

Unsere Untersuchungen zeigen, daß Ca^{2+} eine wirkungsvolle Hemmsubstanz sowohl der Adenylatzyklase von Herzmuskel- als auch von Lungengewebe darstellt. Bei geringer Ca^{2+} -Konzentration zeigt sich noch eine Aktivierung durch steigende Konzentrationen von Isoprenalin, ein Effekt, der mit zunehmender Ca^{2+} -Konzentration nicht meßbar ist. Steer und Levitzki (1975 [11, 12]) vermuten aufgrund ihrer Ergebnisse eine eigene Bindungsstelle für Ca^{2+} an der Adenylatzyklase. Ca^{2+} würde somit als negativer allosterischer Effektor an der Adenylatzyklase wirken, d.h. das Enzym in eine inaktive Form überführen.

Mg^{2+} stimuliert die Adenylatzyklase konzentrationsab-

hängig; wobei in unseren Experimenten ein Unterschied zwischen der Enzymaktivierung am Herzmuskel- und Lungengewebe gefunden wurde. Von verschiedenen Forschergruppen konnte gezeigt werden, daß Mg^{2+} zur Bildung des eigentlichen Enzymsubstrates Mg-ATP notwendig ist [13, 18]; von anderen wird betont, daß Mg^{2+} ebenfalls einen allosterischen Effekt auf die Adenylatzyklase aufweist [14, 15].

Es wird vermutet, daß mehrere Angriffspunkte für die Regulation der Adenylatzyklase existieren, wobei noch nicht geklärt ist, ob dieser Effekt über ein Kopplungsglied zwischen Rezeptor und Adenylatzyklase erfolgt oder direkt am Enzym durch Konformationsänderung. Regulativ mit eigener Bindungsstelle wirken Nukleotide (GTP, ATP und Gpp(NH)p), Ca^{2+} und Mg^{2+} [16, 17]. Nach Rodbell (1975 [17]) und Narayanan und Sulakhe (1977 [18]) wird durch Gpp(NH)p die Adenylatzyklase in eine aktive Enzymkonformation transformiert, die durch Mg^{2+} in eine noch aktivere Form gebracht werden kann.

Die unterschiedliche konzentrationsabhängige Wirkung von Mg^{2+} auf das Rezeptor-Adenylatzyklase-System von Herzmuskel- und Lungengewebe ist noch weitgehend ungeklärt, wäre aber mit zwei verschiedenen Rezeptor-Adenylatzyklase-Systemen vereinbar.

Literatur beim Verfasser und im Sonderdruck

Unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (ER 65/1)

Für die Verfasser: Dr. W. Krawietz, Medizinische Klinik I der Universität, Klinikum Großhadern, 8000 München 70

Myokardiale Elektrolytverschiebungen im Frühstadium der adrenergen Kardiopathie

L.-H. Thang / R. Jacob / H.-G. Classen

Institut für Ernährungslehre, Abt. Pharmakologie und Toxikologie, Universität Hohenheim

Weiblichen Sprague-Dawley-Ratten (85 bis 92 g schwer) wurden an drei Tagen einmal täglich 1,5 mg 9-Alpha-Fluorhydrocortisonacetat subkutan injiziert und am 3. Versuchstag zusätzlich 5 mg Ephedrin und 150 μg Adrenalin subkutan. Null, 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden nach Gabe der Sympathomimetika wurden die Herzen nach Dekapitation entnommen. Im frühen pränekrotischen Stadium, d.h. während der ersten acht Stunden, fand sich ein

exponentieller Anstieg von Ca und Na, während Mg abnahm bis auf $-9,8\%$. Das Kalium blieb unbeeinflusst. In späteren Stadien, d.h. bereits nach 24 Stunden, waren makroskopisch sichtbare Nekrosen nachweisbar. Als Folge offensichtlich sekundärer Veränderungen wurde eine exzessive Ca-Überladung des Myokards bis zu $+1000\%$ beobachtet, während der anfänglich deutliche Magnesiumverlust teilweise maskiert war.

Einleitung

Bei der Diskussion über die Pathogenese und Prophylaxe metabolischer Myokardnekrosen hat es sich bewährt, prädisponierende Elektrolytverschiebungen nach Fleckenstein und seiner Arbeitsgruppe in Form einer Elektrolytgleichung darzustellen [1, 2]:

$$\frac{\text{Ca}^{++}; \text{Na}^+}{\text{Mg}^{++}; \text{K}^+; \text{H}^+ (\text{Cl}^-)}$$

Durch ein erhöhtes Angebot an Ca^{++} und Na^+ sowie auch durch eine Abnahme von Mg^{++} , K^+ und H^+ werden jeweils Bedingungen geschaffen, unter denen die Kardiotoxizität von Katecholaminen erhöht ist. Entscheidend für das Überleben oder Absterben der Myokardzellen ist nämlich ein Mindestmaß an energiereichen Phosphaten (ATP; Kreatinphosphat). Durch einen überhöhten Ca-Einstrom, der von hohen Na-Konzentrationen begleitet wird, kommt es zu einer exzessiven Aktivierung der Myofibrillen-ATP-ase und somit zu einem exzessiven Verbrauch an energiereichen Phosphaten.

Durch Hypoxie, wie sie z.B. beim akuten Koronarverschluß vorliegt, kann ein kritischer Spiegel an energiereichen Phosphaten ebenfalls unterschritten werden, und zwar aufgrund einer verminderten ATP-Synthese. Nach Lehr und seiner Arbeitsgruppe [3, 4] ist die ATP-Synthese ebenfalls stark herabgesetzt, wenn der myokardiale Mg-Gehalt, insbesondere innerhalb der Mitochondrien, unter kritische Konzentrationen absinkt.

Es war das Ziel der vorliegenden Studie, zu überprüfen, ob im Rahmen der adrenergen Kardiopathie primär eine Ca-Überladung oder eine Mg-Verarmung erfolgt. Weiter sollte überprüft werden, ob die oben dargestellte Elektrolytgleichung – abgesehen von der Wasserstoffionenkonzentration – auch für die innerhalb der Zelle

ablaufenden Reaktionen von entscheidender Bedeutung ist.

Material und Methoden

Als Versuchstiere dienten 120 weibliche Sprague-Dawley-Ratten (85 bis 92 g schwer), die unter Standardbedingungen gehalten wurden. Am Ende des Versuches lag das Körpergewicht bei 92 bis 100 g. Folgendes Behandlungsschema wurde verwendet:

Gruppe 1 (n = 15)

Kontrolle: 0,2 ml Aqua demineralisata subkutan einmal täglich um 8 Uhr

Gruppe 2 (n = 15)

9-alpha-Fluorhydrocortisonacetat (F-Col)* 1,5 mg in 0,2 ml Aqua dem. suspendiert, subkutan einmal täglich um 8 Uhr

Gruppe 3 (n = 18)

F-Col: 1,5 mg/0,2 ml subkutan, einmal täglich um 8 Uhr. Zusätzlich am 3. Tag: Ephedrin, 5 mg/0,2 ml Aqua dem., subkutan, um 9.45 Uhr; zusätzlich Adrenalin, 150 µg/0,2 ml Aqua dem., subkutan, um 10 Uhr

Herzentnahme nach einer Stunde

Gruppe 4 bis 7 (n = jeweils 18)

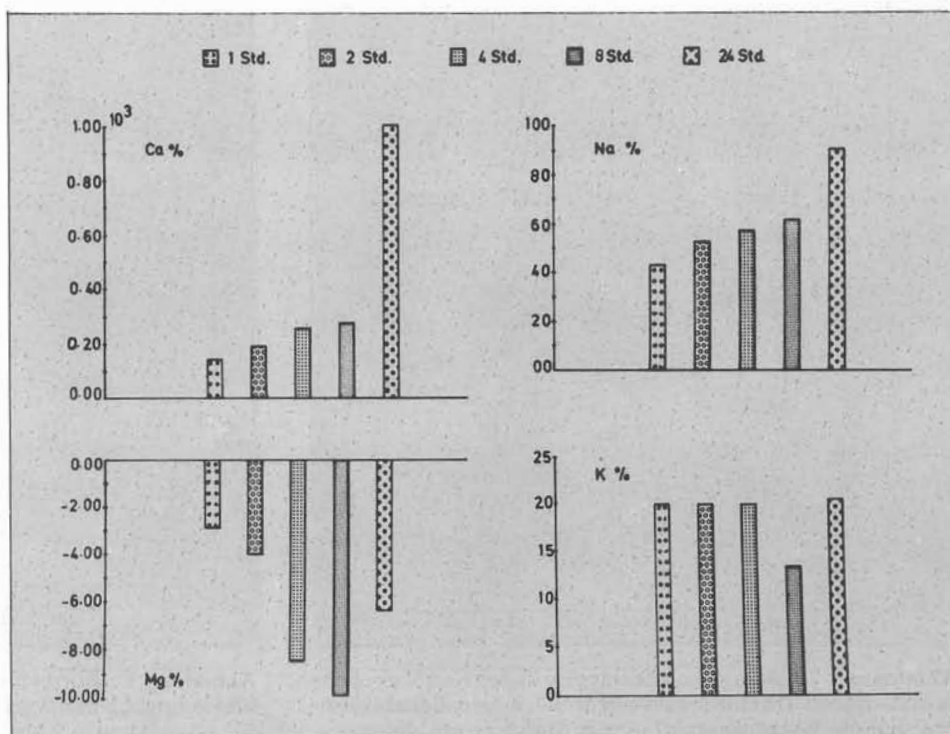
Behandlung wie Gruppe 3; Herzentnahme nach 2, 4, 8, 24 Stunden.

Die Entnahme der Herzen erfolgte zu den angegebenen Zeiten nach Dekapitation; die Aufarbeitung der Gewebe sowie die Bestimmung der Elektrolytkonzentrationen mit Hilfe der Atomabsorptions-Spektrophotometrie erfolgte wie früher beschrieben (Jacob und Classen, 1978).

Die Wiederfindungsrate in Prozent des Soll-Wertes betrug für Ca $91,3 \pm 2,5\%$; für Na $97 \pm 2,0\%$; für Mg $97,5 \pm 1,3\%$ und für K $93,8 \pm 1,7\%$ (n = jeweils 18).

* U-4845; lot SE-658. Wir danken der Firma The Upjohn Comp., Kalamazoo, Mich., USA, für die freundliche Überlassung von Versuchsmengen

Abbildung 1 Prozentuale Erhöhung bzw. Abnahme der Ca-, Na-, Mg- und K-Gehalte im Herzmuskel, bezogen auf die F-Col-Gruppe, unter Einbeziehung der Herzen mit Nekrosen (Gruppe 7; 24 Std.)



Ergebnisse

Die Behandlung mit F-Col führte zu einer Zunahme des Herztrockengewichtes (von $79,7 \pm 8,1$ mg auf $86,4 \pm 8,7$ mg) sowie zu einer signifikanten Abnahme von Ca ($-9,8\%$), Na ($-6,3\%$), K ($-5,7\%$) und Mg ($-2,8\%$).

Die Elektrolytverschiebungen nach zusätzlicher Gabe der Sympathomimetika Ephedrin und Adrenalin sind, den unterschiedlichen Entnahmezeiten entsprechend, als prozentuale Änderung in bezug auf die F-Col-Gruppe in Abbildung 1 dargestellt.

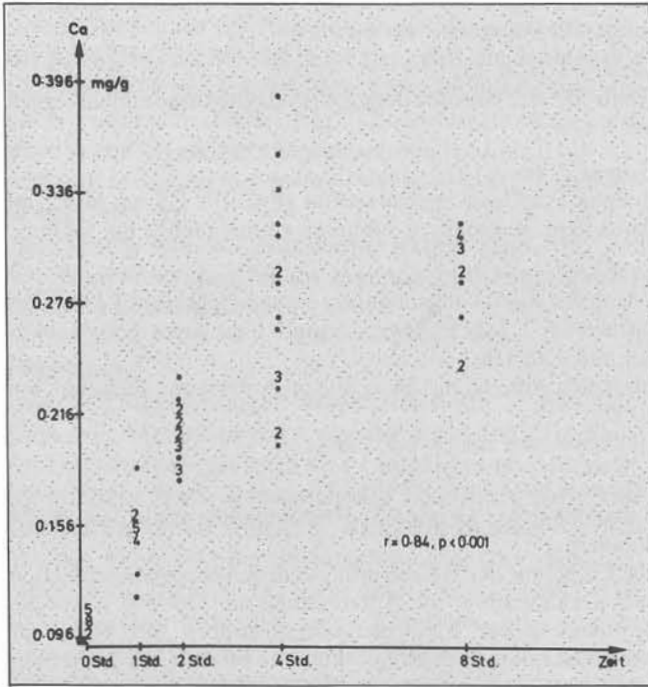


Abbildung 2 Abhängigkeit des myokardialen Kalziumgehalts vom Zeitpunkt der Gabe von Ephedrin + Adrenalin; aufgetragen sind die Werte von der 0. bis 8. Stunde

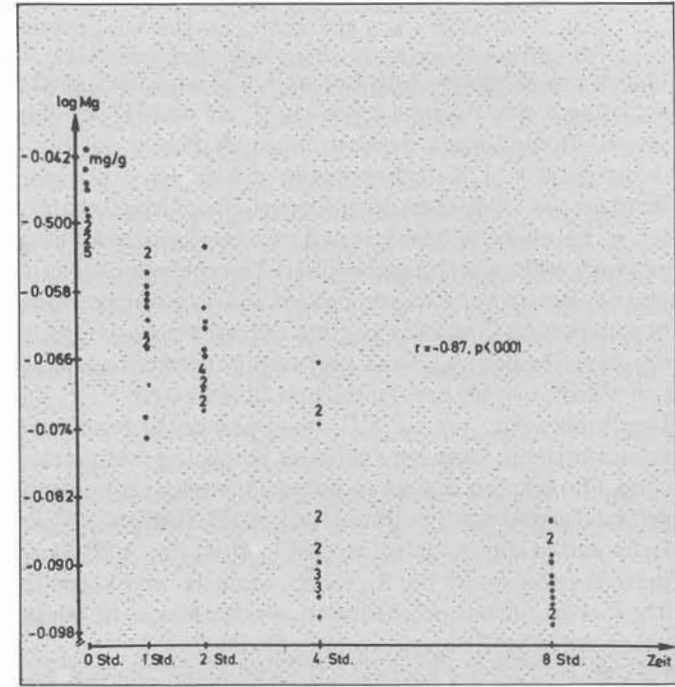


Abbildung 4 Abhängigkeit des myokardialen logarithmischen Magnesiumgehalts vom Zeitpunkt der Gabe von Ephedrin + Adrenalin; aufgetragen sind die Werte von der 0. bis 8. Stunde

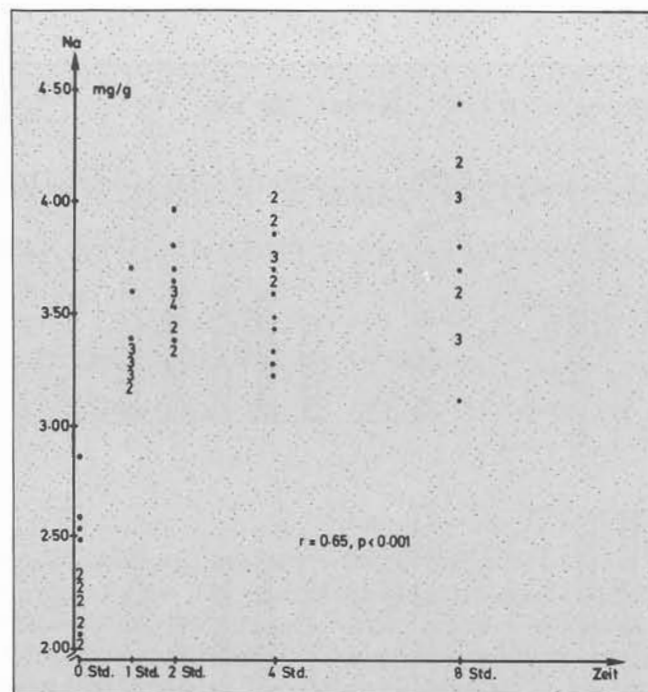


Abbildung 3 Abhängigkeit des myokardialen Natriumgehalts vom Zeitpunkt der Gabe von Ephedrin + Adrenalin; aufgetragen sind die Werte von der 0. bis 8. Stunde

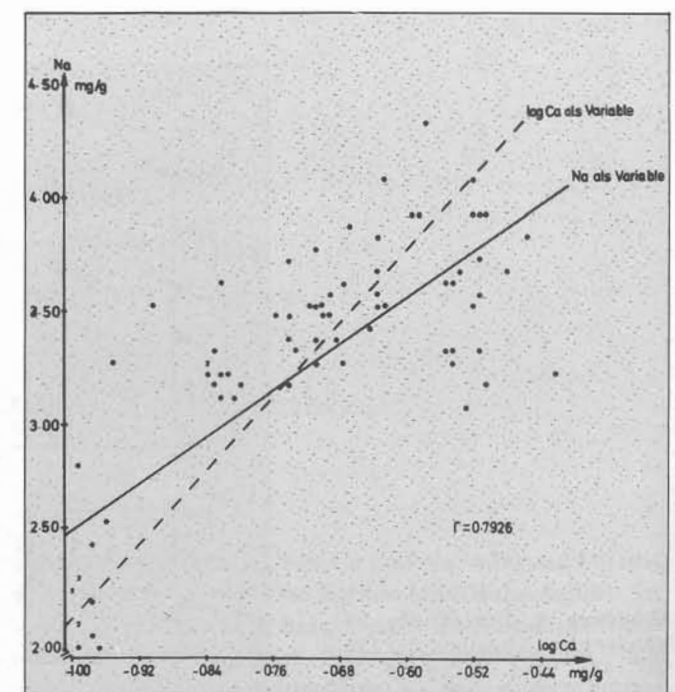


Abbildung 5 Korrelation zwischen Na und log Ca unter Berücksichtigung der Werte von der 0. bis 8. Stunde

Kalzium

In Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Amingabe findet sich eine deutliche Zunahme. Auffallend ist der 24-Stunden-Wert mit einer Zunahme von rund +1000%. Zu diesem Zeitpunkt hatten bereits vier Tiere makroskopisch sichtbare Herznarkosen entwickelt; dieser Befund spricht dafür, daß bereits sekundär Ablagerungen stattgefunden haben.

Natrium

Die Konzentration steigt mit zunehmender Zeit an und erreicht maximal rund +90%.

Magnesium

Der myokardiale Mg-Gehalt nimmt ab, die niedrigsten Konzentrationen finden sich mit -9,8% nach acht Stunden. Nach 24 Stunden ist die Abnahme mit -6,4% weniger deutlich ausgeprägt, was ebenfalls eine Folge des Zelluntergangs sein könnte (siehe oben).

Kalium

Im Vergleich zur F-Col-Gruppe stieg der Gehalt mäßig an. Nach Gabe der Sympathomimetika fanden sich innerhalb des Beobachtungszeitraumes keine weiteren Veränderungen.

Aufgrund der Tatsache, daß sich nach 24 Stunden bereits Nekrosen nachweisen ließen und das Mg wieder anstieg, erschienen die Veränderungen im pränekrotischen Stadium, d.h. während der ersten acht Stunden, von besonderem Interesse. In Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Gabe der Sympathomimetika Ephedrin und Adrenalin fand sich für Kalzium und Natrium jeweils ein Anstieg, der exponentiell verlaufen dürfte (vgl. Abb. 2 und 3).

Umgekehrt nimmt das Mg im selben Beobachtungszeitraum ab (vgl. Abb. 4, hier ist die logarithmische Einteilung der Y-Achse zu beachten).

Schließlich interessierte, inwieweit die Zunahme von Ca bzw. Na einerseits und die Abnahme von Mg andererseits miteinander korrelieren. Zwischen Na und Ca ergibt sich eine positive hochsignifikante Korrelation von $r =$ rund 0,8 (vgl. Abb. 5). Dies bedeutet, daß eine Ca-Überladung des Herzens mit einer Zunahme an Na einhergeht; ein kausaler Zusammenhang muß dieser gleichsinnigen Elektrolytverschiebung jedoch nicht zugrunde liegen.

Eine hochsignifikante negative Beziehung von $r = -0,7$ bzw. rund -0,9 ergibt sich jeweils zwischen Na bzw. dem Logarithmus der Ca-Konzentration und dem myokardialen Mg-Gehalt (vgl. Abb. 6 und 7): Eine Abnahme des myokardialen Mg-Gehaltes geht also mit einer Überladung mit Ca bzw. Na einher und umgekehrt. Auch diese negativen Korrelationen müssen nicht Ausdruck eines Kausalzusammenhanges sein.

Diskussion

Die Experimente zeigen, daß im frühen pränekrotischen Stadium der adrenergen Kardiopathie intrazelluläre Elektrolytverschiebungen stattfinden, und zwar eine Zunahme von Na und Ca bei einer Abnahme von Mg. Die Tatsache, daß eine hochsignifikante Korrelation zwischen Ca-Zunahme und Mg-Abnahme besteht, spricht dafür, daß diese gegensinnigen Elektrolytverschiebungen gleichzeitig stattfinden. Die Frage, ob primär eine Ca-Überladung stattfindet, wie sie von Fleckenstein und Mitarb. postuliert wird, oder aber primär ein Mg-Verlust auftritt, wie er von Lehr und Mitarb. vermutet wird, kann

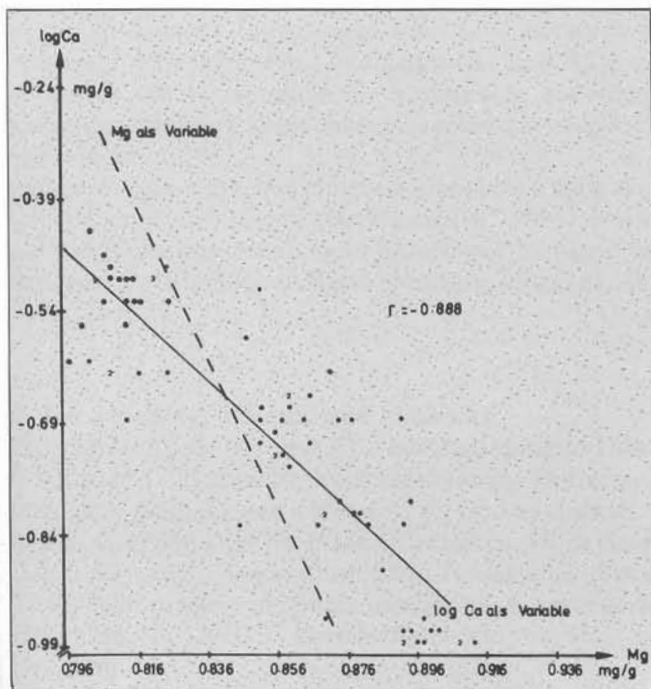


Abbildung 6 Korrelation zwischen log Ca und Mg unter Berücksichtigung der Werte von der 0. bis 8. Stunde

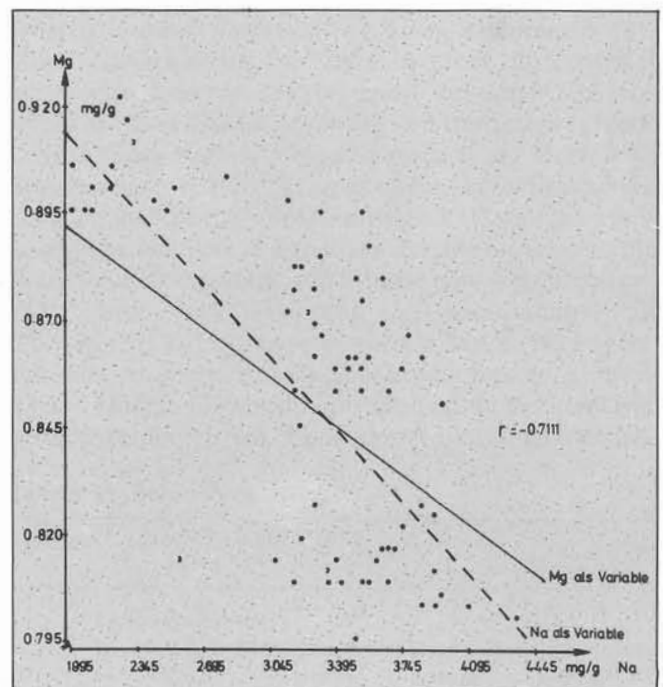


Abbildung 7 Korrelation zwischen Na und Mg unter Berücksichtigung der Werte von der 0. bis 8. Stunde

nicht beantwortet werden. Die vorliegenden Ergebnisse lehnen keine der beiden Arbeitshypothesen ab und lassen zusätzlich die Möglichkeit offen, daß exzessiver Ca-Einstrom und damit exzessiver Verbrauch an energiereichen Phosphaten gleichzeitig mit Mg-Verlusten und damit verminderter Synthese an ATP einhergehen.

Beide Pathomechanismen führen letztendlich zum Zelluntergang, der bereits 24 Stunden nach einmaliger Gabe von Sympathomimetika in Form makroskopisch sichtbarer Nekrosen nachweisbar war. Zu diesem späten Stadium der adrenergen Kardiopathie sind offenbar bereits auch sekundäre Veränderungen eingetreten, die insbesondere den anfänglichen myokardialen Mg-Verlust überdecken können. Dies bedeutet – vor allem auch für die Klinik – daß normale bzw. wieder normale Mg-Konzentrationen in den entsprechenden Gewebeproben aus

Sektionen nicht vorausgegangene erniedrigte Konzentrationen ausschließen.

In Übereinstimmung mit Lehr [4] fanden sich überraschenderweise keine K-Verschiebungen im Frühstadium der adrenergen Kardiopathie. Dennoch zeigten die Befunde – zumindest was das Ca, Na und Mg anbetrifft –, daß die eingangs gezeigte Elektrolytgleichung auch für die Vorgänge in der Herzmuskelzelle gilt und daß eine Erhöhung des Zählers (Ca, Na) und/oder eine Erniedrigung des Nenners (Mg) zum Zelluntergang führen können.

Literatur beim Verfasser und im Sonderdruck

Für die Verfasser: Dipl.-Ernährungswissenschaftler L.-H. Thang, Universität Hohenheim, Postfach 106/04300, 7000 Stuttgart 70