

Intermediäre Effekte von g-Strophanthin und Digitoxin im Tierversuch

M. Kietzmann und K. Kaemmerer

Zusammenfassung

In verschiedenen Versuchsanstellungen wurde an Ratten untersucht, ob g-Strophanthin nach oraler Gabe eine intermediäre Wirkung entfaltet. Die im Mikrosomensaft aus Herzmuskelzellen gemessene Proteinsyntheserate wurde durch g-Strophanthin dosisabhängig gesteigert. Der Quotient Acetyl-Coenzym A/Coenzym A wurde zugunsten des acetylierten Coenzym verschoben. Im Vergleich zu Digitoxin zeigten sich deutliche Unterschiede hinsichtlich der Beeinflussung der Proteinsyntheserate und des Acetyl-Coenzym A/Coenzym A-Quotienten. Die durchgeführten Versuche belegen für g-Strophanthin eine intermediäre Wirkung; eine Beeinflussung des Energiestoffwechsels deutet sich an.

Summary

Ouabain was tested for intermediary effects in rats after oral applications. By ouabain the rate of protein synthesis in myocardial cells (measured in microsomal juice) was dose-dependent increased. The acetyl coenzyme A/coenzyme A ratio was enhanced. Compared to digitoxin there were differences referring to the influence on protein synthesis and the acetyl coenzyme A/coenzyme A ratio. Demonstrating the intermediary effects of ouabain the tests also point out some influence in energy metabolism.

Die Wirksamkeit von oral verabreichtem g-Strophanthin ist nach wie vor umstritten und wird kontrovers diskutiert. Die Kritik gründet sich in erster Linie auf dem lehrbuchbekannten geringen Resorptionsumfang des Herzglykosids. Allerdings zeigt sich, daß das pharmakokinetische Verhalten von g-Strophanthin durch die bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse nicht ausreichend charakterisiert werden kann.

In den nachfolgend beschriebenen Versuchen wurde geprüft, ob g-Strophanthin nach oraler Gabe intermediäre Effekte entfaltet. In einer ersten Versuchsreihe wurde g-Strophanthin subkutan und oral verabreicht. Als Untersuchungsparameter diente die Proteinsyntheserate in verschiedenen Geweben (Kaemmerer u. Kietzmann, 1986). Eine zweite Versuchsreihe, in der g-Strophanthin und Digitoxin (orale Applikation) Verwendung fanden, schloß sich an. Hier wurde zusätzlich die myokardiale Konzentration von Coenzym A und Acetyl-Coenzym A gemessen.

Methodik

Als Versuchstiere dienten männliche Ratten (Wistar). Das Einsatzgewicht lag in den ersten Versuchen bei 100 g, im letzten Versuch der 1. Serie sowie der gesamten 2. Untersuchungsreihe dagegen bei 350 g. Die Tiere lebten unter standardisierten Bedingungen bei einer Raumtemperatur von 22° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60%. Gefüttert wurde eine Diät nach Drepper und Weik (1972) resp. eine Standarddiät (Altromin, Pellets beziehungsweise Mehlförm). Futter und Wasser standen zur freien Aufnahme zur Verfügung. Tab. 1 und 2 geben einen Überblick über die Versuchsplanung.

Die Bestimmung der Proteinsyntheserate erfolgte nach der Behandlungsphase in vitro im aus Gewebeproben gewonnenen Mikrosomensaft. Das Prinzip der Messung beruht auf der Bestimmung der Einbaurrate eines ¹⁴C-markierten Aminosäuregemisches. Einzelheiten der Methodik s. bei Kaemmerer und Dey-Hazra (1980).

Tab. 1: Versuchsplan der 1. Versuchsreihe

| Versuch | Behandlung mit g-Stroph. | Appl.-art | Behandlungsdauer (Tage) | untersuchte Gewebe |
|---------|--|--------------------------|-------------------------|--|
| 1 | 0,5 mg/kg | s. c. oral ¹⁾ | 2 | Herzmuskel |
| 2 | 0,1 mg/kg 0,25 mg/kg 0,5 mg/kg | s. c. oral ¹⁾ | 1,2 | Herzmuskel Leber Duodenum Skelettmuskel |
| 3 | 0,014 mg/kg 0,14 mg/kg 0,42 mg/kg | s. c. oral ¹⁾ | 7 | Herzmuskel |
| 4 | 5 mg/kg FM 10 mg/kg FM 15 mg/kg FM | oral ²⁾ | 7 | Herzmuskel |

¹⁾ orale Eingabe, ²⁾ Gabe mit dem Futter

Intermediäre Effekte von g-Strophanthin und Digitoxin im Tierversuch

Die in der zweiten Versuchsserie zusätzlich zur Proteinsyntheserate durchgeführte Bestimmung der Konzentration an Coenzym A und Acetyl-Coenzym A im Herzmuskel erfolgte enzymatisch nach Michal und Bergmeyer (1985).

Ergebnisse

1. Versuchsserie

Die subkutane und die orale Gabe von g-Strophanthin führten zu einer Steigerung der myokardialen Proteinsyntheserate. Bei scheinbehandelten Kontrolltieren (Behandlung mit 0,9%iger Kochsalzlösung) zeigte sich dagegen eine Minderung der Aminosäureeinbaureate (Abb. 1).

Im Gegensatz zur Herzmuskulatur, in der ein deutlicher Einfluß des oral verabreichten g-Strophanthins auf die Proteinsyntheserate auffiel, trat in der Leber, der Skelettmuskulatur und im Duodenum keine signifikante Steigerung der Aminosäureeinbaureate auf (Abb. 2).

In Abb. 3 ist die Dosisabhängigkeit der Wirkung von g-Strophanthin auf die myokardiale Proteinsyntheserate nach subkutaner und oraler Gabe dargestellt. Während die subkutane Gabe von 0,14 mg g-Strophanthin/kg Körpergewicht bereits

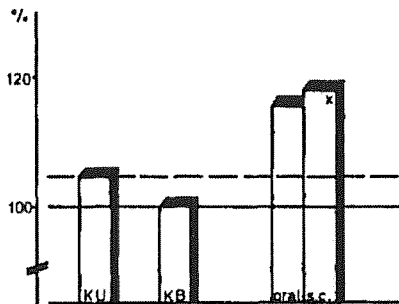


Abb. 1: Proteinsyntheserate im Herzzell-Mikrosomenzellsaft von Ratten nach einmaliger subkutaner resp. oraler Gabe von g-Strophanthin (0,5 mg/kg Körpergewicht); Angaben in %
 KU = Kontrolle unbehandelt
 KB = Kontrolle, scheinbehandelt (= 100%)
 * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

einen signifikanten Einfluß auf die myokardiale Proteinsyntheserate entfaltete, führte nach oraler Verabreichung erst eine Dosis von 0,42 mg g-Strophanthin/kg Körpergewicht einen entsprechenden Effekt herbei.

Da die orale Eingabe eine Streßbelastung für die Tiere darstellte, in deren Folge es zu einer Minderung der Proteinsyntheserate kam (s. auch Meerson, 1984), wurde g-Strophanthin in einer weiteren Untersuchung über das Futter verabreicht. Hier wurde die myokardiale Proteinsyntheserate ebenfalls gesteigert (Abb. 4).

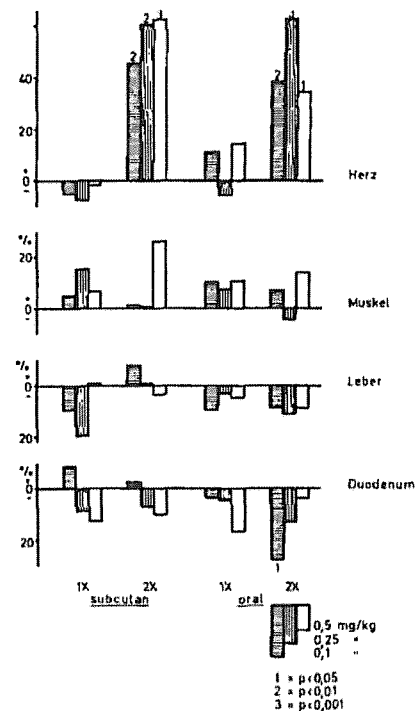


Abb. 2: Proteinsyntheserate im Mikrosomenzellsaft aus Herz-, Skelettmuskel-, Leber- und Duodenalgewebe von Ratten nach ein- und zweimaliger subkutaner resp. oraler Behandlung mit g-Strophanthin; Angaben in % gegenüber einer scheinbehandelten Kontrollgruppe
 * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Tab. 2: Versuchsplan der 2. Versuchsserie

| Versuch | Behandlung mit | Konzentr. im Futter (mg/kg) | Behandlungs-dauer (Tage) | untersuchte Gewebe |
|---------|----------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------|
| 1 | g-Stroph. | 5,0 | 7 | Herzmuskel |
| | | 10,0 | | |
| | | 15,0 | | |
| | Digitoxin | 6,5 | | |
| | | 13,0 | | |
| 2 | Digitoxin | 0,025 | 7 | Herzmuskel |
| | | 0,1 | | |
| | | 0,5 | | |
| | | 1,0 | | |
| | | 5,25 | | |
| | | 10,50 | | |
| | | 15,75 | | |

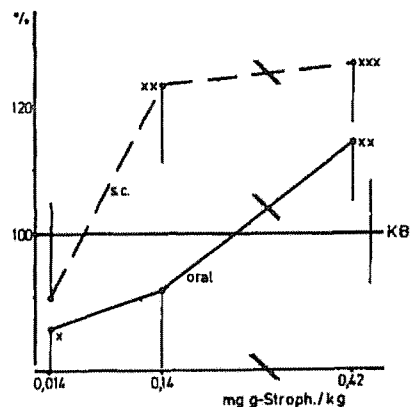


Abb. 3: Proteinsyntheserate in Herzzell-Mikrosomenzellsaft von Ratten nach täglicher subkutaner resp. oraler Gabe von g-Strophanthin über 1 Woche; Angaben in % gegenüber einer scheinbehandelten Kontrollgruppe (= 100%)
 * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

Befund

Die Ergebnisse der 1. Versuchsreihe belegen für g-Strophanthin eine intermediäre Wirkung nach subkutaner und oraler Verabreichung. Es zeigt sich eine Dosis- und Zeitabhängigkeit. Eine Zuordnung des Befundes zum klinischen Effekt oral verabreichten g-Strophanthins ist nicht möglich. Die Steigerung der Proteinsyntheserate gibt jedoch einen Hinweis auf eine mögliche Ökonomisierung des myokardialen Zellstoffwechsels.

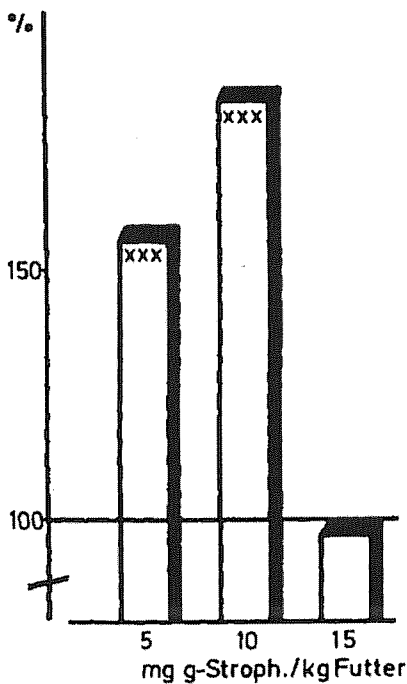


Abb. 4: Proteinsyntheserate in Herz-Zell-Mikrosomensaft von Ratten nach oraler Gabe von g-Strophanthin mit dem Futter über 1 Woche; Angaben in % gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe (1. Versuchsserie)
* = p < 0,05; ** = p < 0,01; *** = p < 0,001

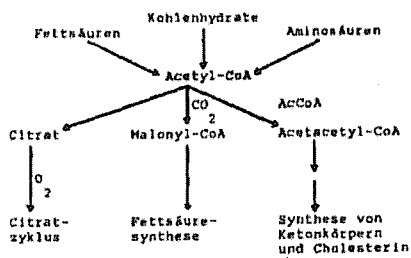


Abb. 5: Stellung von Acetyl-Coenzym A im Intermediärstoffwechsel

2. Versuchsserie

Abb. 5 zeigt die zentrale Stellung des in den nachfolgend beschriebenen Versuchen zusätzlich gemessenen Acetyl-Coenzym A im Intermediärstoffwechsel. Der Acetyl-Coenzym A/Coenzym A-Quotient besitzt zudem Bedeutung für die Steuerung der Aktivität verschiedener Enzyme (Siess u. Mit., 1976; Roche und Cate, 1977; Newsholme und Start, 1977).

Die myokardiale Proteinsyntheserate wurde im 1. Versuch der 2. Untersuchungsreihe nach oraler Gabe von g-Strophanthin wiederum gesteigert; das im vorherigen Versuch beobachtete Ausmaß wurde jedoch nicht erreicht (Abb. 6). Im Gegensatz zu g-Strophanthin induzierte Digitoxin nach oraler Gabe in äquivalenter Dosis keinen derartigen Effekt auf die Proteinsyntheserate (Abb. 7). Wie aus Abb. 7 ebenfalls zu entnehmen ist, führten auch Konzentrationen von 0,025–15,75 mg Digitoxin/Kg Futter nicht zu einer dem g-Strophanthin entsprechenden Steigerung der Aminosäureeinbaurrate. Dieser Befund steht im Einklang mit Angaben im Schrifttum (Turto, 1977).

g-Strophanthin induzierte eine Minderung der Coenzym A-Konzentration im Herzmuskel. Eine Dosisabhängigkeit deutete sich an (Abb. 8). Da die Konzentration von Acetyl-Coenzym A nahezu unverändert blieb, bedeutet dies eine erhebliche Steigerung des Acetyl-Coenzym A/Coenzym A-Quotienten (Abb. 10). Auch nach Behandlung mit Digitoxin kam es zu einer Veränderung der Coenzym A-Konzentration (Abb. 9). Die Verschiebung des Acetyl-Coenzym A/Coenzym A-Quotienten zugunsten des acetylierten Coenzym A zeigte sich jedoch im niedrigeren Konzentrationsbereich, so daß zwischen beiden Stoffen ein deutlicher Unterschied festzustellen war. Im 2. Versuch verwendete Konzentrationen von 0,025–1,0 mg Digitoxin/kg Fut-

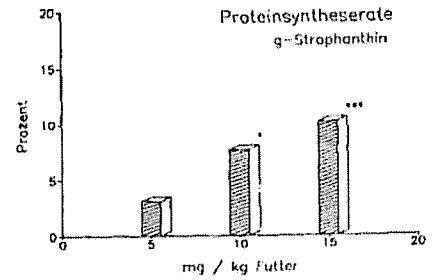


Abb. 6: Proteinsyntheserate in Herz-Zell-Mikrosomensaft von Ratten nach oraler Gabe von g-Strophanthin mit dem Futter über 1 Woche; Angaben in % gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe (2. Versuchsserie)
* = p < 0,05; ** = p < 0,01; *** = p < 0,001

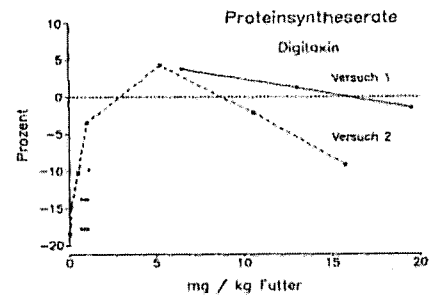


Abb. 7: Proteinsyntheserate in Herz-Zell-Mikrosomensaft von Ratten nach oraler Gabe von Digitoxin mit dem Futter über 1 Woche; Angaben in % gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe
* = p < 0,05; ** = p < 0,01; *** = p < 0,001

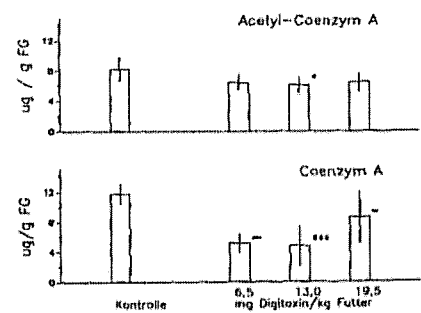


Abb. 8: Konzentration von Coenzym A und Acetyl-Coenzym A im Myokard-Homogenat nach oraler Gabe von g-Strophanthin mit dem Futter über 1 Woche
* = p < 0,05; ** = p < 0,01; *** = p < 0,001

ter veränderten den Acetyl-Coenzym A/Coenzym A-Quotienten nicht signifikant. Lediglich 5,25 und 10,5 mg Digitoxin/kg Futter beding-

Intermediäre Effekte von g-Strophanthin und Digitoxin im Tierversuch

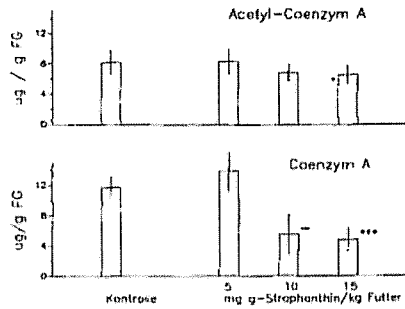


Abb. 9: Konzentration von Coenzym A und Acetyl-Coenzym A im Myokard-Homogenat nach oraler Gabe von Digitoxin mit dem Futter über 1 Woche

* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

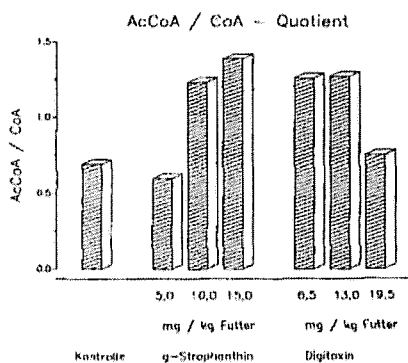


Abb. 10: Quotient Acetyl-Coenzym A/Coenzym A im Myokardhomogenat nach oraler Gabe von g-Strophanthin und Digitoxin mit dem Futter über 1 Woche

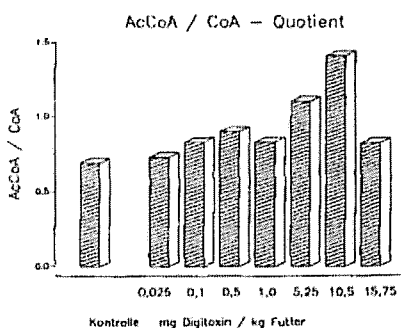


Abb. 11: Quotient Acetyl-Coenzym A/Coenzym A im Myokardhomogenat nach oraler Gabe von Digitoxin mit dem Futter über 1 Woche

ten eine Steigerung des Quotienten, während 15,75 mg/kg Futter wiederum ohne Effekt blieben (Abb. 11).

Befund

Der in der 1. Versuchsreihe erhobene Befund, daß g-Strophanthin nach oraler Gabe einen intermediären Effekt entfaltet, wurde bestätigt. Hinsichtlich des Einflusses auf die Proteinsyntheserate fällt zwischen g-Strophanthin und Digitoxin ein Unterschied auf. Die Veränderung des Acetyl-Coenzym A/Coenzym A-Quotienten weist einen Einfluß auf den Energiestoffwechsel aus.

Diskussion

g-Strophanthin entfaltet nach oraler Verabreichung bei Ratten eine intermediäre Wirkung. Ziel der Untersuchung war es nicht, spezifische kardiale Wirkungen des Herzglykosids aufzuklären, sondern lediglich zu prüfen, ob die Substanz nach oraler Gabe trotz des bekannten geringen Resorptionsumfangs einen intermediären Effekt entfaltet. Dies kann eindeutig bejaht werden. Die als Untersuchungsparameter Verwendung findende Messung der Proteinsyntheserate erlaubt keine Hypothesen hinsichtlich der kardialen Wirkung des Glykosids. Sie stellt eine terminale Reaktion dar und kann allerdings als Hinweis auf eine Ökonomisierung des Stoffwechsels angesehen werden. Aufgrund der naheliegenden Überlegungen über eine Beeinflussung des Energiestoffwechsels wurde in der 2. Versuchsserie die Konzentration von Coenzym A und Acetyl-Coenzym A im Myokard gemessen. Der Quotient Acetyl-Coenzym A/Coenzym A besitzt für die Regulation des Energiestoffwechsels große Bedeutung. Eine Schlüsselstellung nimmt hier die Regulation der Aktivität der Pyruvatdehydrogenase ein, welche das im Intermediärstoffwechsel entstehende Pyruvat über Acetyl-Coenzym A dem Citratzyklus zuführt (aerober Glukoseabbau). Alternativ wird Pyruvat - katalysiert durch die Lactatde-

hydrogenase - zum Lactat abgebaut (anaerober Glukoseabbau). Ein Acetyl-Coenzym A-Coenzym A-Quotient unterhalb von 1-1,1 bedingt eine hohe Aktivität der Pyruvatdehydrogenase. Ein Quotient oberhalb von 1 bedingt eine Steigerung der Aktivität der Citratsynthase, die die Reaktion von Acetyl-Coenzym A und Oxalacetat zu Citrat und Coenzym A katalysiert (Siess u. Mit., 1976; Roche und Cate, 1977; Newsholme und Start, 1977). In diesem Sinne stellt die gefundene Veränderung des Acetyl-Coenzym A/Coenzym A-Quotienten einen Hinweis auf eine Beeinflussung des Energiestoffwechsels dar. Es bleibt zu überprüfen, ob eine Bedeutung für eine Ökonomisierung der intermediären Energieutilisation durch aerobe Reaktionen besteht. Der Befund bedarf noch der weiteren Überprüfung. Daneben erscheinen zusätzlich weitere Untersuchungen zur Pharmakokinetik von g-Strophanthin unumgänglich, um die klinischen Erfahrungen und die im Tierexperiment gefundene intermediäre Wirksamkeit des Herzglykosids zusätzlich zu belegen.

Die vorliegenden Experimentaldaten zeigen eine Beeinflussung des myokardialen Stoffwechsels durch g-Strophanthin. Sie sollen die klinischen Befunde eines kardioprotektiven Effektes nicht erklären, sondern lediglich eine intermediäre Wirkung des Herzglykosids aufzeigen. Feststellen läßt sich jedoch eine kardioselektive Wirkung von g-Strophanthin sowie eine auffällige Beeinflussung des Verhältnisses Acetyl-Coenzym A/Coenzym A, die auf eine Wirkung im Energiestoffwechsel hinweist. Weitere Untersuchungen sollten sich neben den noch ungeklärten Fragen zur Pharmakokinetik mit einer weiteren Prüfung der Beeinflussung energieliefernder Stoffwechselprozesse beschäftigen.

Literatur

Kaemmerer, K. A. und Dey-Hazra: Vet. Med. Nachr. (1980) 99–111.

Kaemmerer, K. und M. Kietzmann: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **98** (1986) 262–267.

Meerson, F. Z.: Adaptation, stress, and prophylaxis. Springer Verlag, Heidelberg/New York/Tokyo 1984.

Michal, G. and H. U. Bergmeyer: Methods of enzymatic analysis, 3. Ed., Vol. VII. In: *Bergmeyer, H. U.* (Hrsg.): Verlag Chemie, Weinheim (1985) 169.

Newsholme, E. A. und C. Start: Regulation des Stoffwechsels. Verlag Chemie, Weinheim 1977.

Roche, T. E. and R. L. Cate: Arch. Biochem. Biophys. **183** (1977) 664–677.

Siess, E. A., D. G. Brocks and O. H. Wieland: FEBS Lett. **69** (1976) 265–271.

Turto, H.: Acta physiol. Scand. **101** (1977) 144–154.

(Anschrift der Verfasser über:
Dr. M. Kietzmann, Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie, Tierärztliche Hochschule Hannover, Büntweg 17, 3000 Hannover 71)