

DISKUSSION

Positiv inotrope Wirkung des Methoxamin

Die Beurteilung der Inotropie erfolgt in der vorliegenden Arbeit anhand der Parameter Druckanstieggeschwindigkeit im linken Ventrikel ($LVdP/dt_{max}$) und linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDP). Dabei ist ein positiv inotroper Effekt generell durch eine Zunahme von $LVdP/dt_{max}$ und einer Abnahme des LVEDP gekennzeichnet.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß Methoxamin am isolierten, arbeitenden linken Ventrikel der Ratte positiv inotrop wirkt. Diese positiv inotrope Wirkung ist insbesondere am Anstieg von $LVdP/dt_{max}$ in den Versuchsgruppen mit 1,25 / 2,5 und 8,75 mmol/l Ca^{2+} zu erkennen (siehe Abb. 46).

Der LVEDP hingegen ändert sich kaum: Während eines Versuches bleibt er bei niedrigeren Methoxaminkonzentrationen zunächst weitgehend konstant, um dann bei höheren Methoxaminkonzentrationen, bei denen eine kardiodepressive Wirkung einsetzt (s.u.), leicht anzusteigen. Nur in der Versuchsgruppe mit 1,25 mmol/l Ca^{2+} findet sich während des Anstiegs von $LVdP/dt_{max}$ auch ein Abfall des LVEDP. In dieser Versuchsgruppe ist der Anstieg von $LVdP/dt_{max}$ am stärksten, während er in den anderen Versuchsgruppen deutlich niedriger ist und deshalb dort eine messbare Minderung des LVEDP ausbleibt.

Das eine Stimulation kardialer α_1 -Rezeptoren zu einem Anstieg der Inotropie führt, ist von verschiedenen Forschergruppen an verschiedenen Spezies und anhand diverser Methoden beschrieben worden, so auch an Präparaten von Rattenherzen (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Arbeiten, in denen ein positiv inotroper Effekt durch α_1 -Stimulation bei der Ratte beschrieben wird.

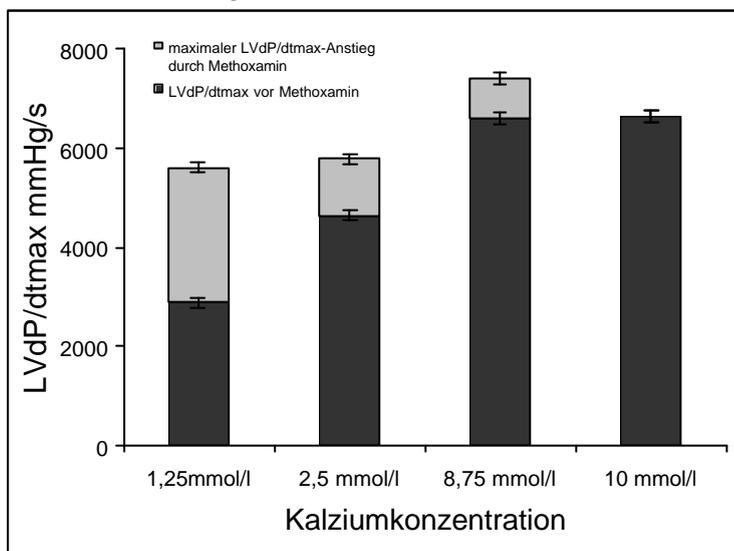
<u>Gewebe</u>	<u>Referenz</u>
linkes Atrium	Nakashima et al 1971
rechtes Atrium	Bennet at al. 1978
ventrikuläre Muskelstrippen	Wagner et al. 1978
Papillarmuskeln	Osnes et al. 1987
perfundiertes Ganzherz	Edwards et al. 1989

Zum ersten mal wird in der vorliegenden Arbeit die Kalziumabhängigkeit der positiv inotropen α_1 -Wirkung an isolierten arbeitenden Linksherzpräparaten von Ratten untersucht. Dabei sind drei auffällige Befunde zu diskutieren:

- Methoxamin wirkt auf $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ bei 2,5 mmol/l Ca^{2+} deutlich schwächer als bei 1,25 mmol/l Ca^{2+} .
- Methoxamin wirkt auch noch bei hoher Kalziumkonzentration (8,75 mmol/l Ca^{2+}) steigernd auf $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$.
- Bei maximal inotroper Kalziumkonzentration (10 mmol/l Ca^{2+}) ist kein Effekt des Methoxamin mehr messbar.

Abb. 46: Maximale Wirkung des Methoxamin auf die Druckanstieggeschwindigkeit im linken Ventrikel bei unterschiedlichen Kalziumkonzentrationen.

Man beachte die deutlich schwächere Wirkung bei 2,5 mmol/l Ca^{2+} gegenüber 1,25 mmol/l Ca^{2+} , den verbleibenden Anstieg bei 8,75 mmol/l Ca^{2+} sowie die ausbleibende Wirkung bei 10 mmol/l Ca^{2+} .



zu a): Die Abnahme der Inotropiewirkung bei Erhöhung der Kalziumkonzentration in der Versuchslösung von 1,25 auf 2,5 mmol/l Ca^{2+} (siehe Abb. 46) könnte an einer Beeinflussung des α_1 -Signaltransduktionsmechanismus durch Kalzium liegen.

Das offenbar kalziumsensible Zweige der α_1 -Signaltransduktion existieren, belegen verschiedene Untersuchungen. So ist die Aktivität der Proteinkinase C (PKC) nach Untersuchungen von Castagna et al. (1982) kalziumabhängig, wobei höhere Kalziumkonzentrationen zu einer Aktivitätssteigerung der PKC führen.

Die PKC phosphoryliert Proteine sowohl im Sarkolemm als auch im sarkoplasmatischen Retikulum und den Myofilamenten. Außerdem aktiviert die PKC den Na^+/H^+ -Austauscher (Yokoyama et al. 1998), was zu einer Alkalisierung des Zytoplasmas führt, gleichzeitig kommt es durch den Anstieg des intrazellulären Natriums zu einer Aktivierung des $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers. Auch eine Aktivierung des Na^+/P -Symports, des $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ – Kotransports (Andersen et al. 1997) sowie eine Stimulation von Kalziumströmen durch L-Kanäle (Woo et al. 1999) durch die PKC werden beschrieben.

Diese vielfältigen Wirkungen der PKC können sowohl zu einer effektiveren myofibrillären Kalziumverwertung führen (durch die Alkalisierung des Zytoplasmas und Troponin C-Phosphorylierung) als auch das Kalziumangebot in der Zelle erhöhen (durch einen verstärkten $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austausch oder verstärkten Kalziumeinstrom durch L-Typ-Kalziumkanäle) und so zu einer positiv inotropen Wirkung führen.

Offenbar aber ist die PKC auch für negativ inotrope Effekte verantwortlich (z.B. Capogrossi et al. 1990, Kissling et al. 1997), z.B. durch Aktivierung der Na^+/K^+ -ATPase (Peters et al. 1998, Williamson et al. 1993, Gao et al. 1999). Eine Aktivierung der Na^+/K^+ -ATPase führt durch eine Abnahme der intrazellulären Natriumionenkonzentration zu einer Zunahme des elektrochemischen Gradienten für Na^+ , welcher treibende Kraft ist für den $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschmechanismus. Es kommt in der Folge zu einem verstärkten Auswärts-Transport von Kalziumionen mit Abnahme der intrazellulären Kalziumionenkonzentration.

So könnte eine Aktivitätssteigerung der PKC sowohl positiv- als auch negativ- inotrope Auswirkungen haben.

Ob deshalb eine verstärkte Aktivität der PKC tatsächlich ausschlaggebend ist für die Abschwächung der Methoxaminwirkung bei hohen Kalziumkonzentrationen, kann nicht beurteilt werden.

Immerhin scheint Kalzium mit dem Signaltransduktionmechanismus des α_1 -Rezeptors zu interagieren, und offenbar nicht nur mit der PKC. So haben Guarino et al. (1996) entdeckt, daß eines der g-Proteine, welches mit dem α_1 -Rezeptor gekoppelt ist, durch Kalzium in seiner Aktivität gemindert wird. Welche Funktion dieses g-Protein hat ist jedoch nicht geklärt, so daß nicht gesagt werden kann, ob eine Hemmung dieses g-Proteins die positiv inotrope Wirkung des Methoxamin schwächt. Hier wären weitere Untersuchungen nötig.

Der wahrscheinlich bedeutendere Grund der Abschwächung der inotropen Wirkung des Methoxamin durch Kalzium ist darin zu finden, daß sowohl eine Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration als auch α_1 -Stimulation zu einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration führen. Beide positiv inotropen Interventionen konkurrieren damit um denselben Mechanismus und löschen sich folglich gegenseitig aus.

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß die Wirkung einer α_1 -Stimulation nicht nur abhängig ist von der Kalziumkonzentration, wie dies in der vorliegenden Arbeit gezeigt wird, sondern auch von der Stimulationsfrequenz. Dies entdeckten Endoh et al. (1975).

Hierzu ist zu erläutern, daß es durch Erhöhung der Herzfrequenz in den meisten Säugetierherzen zu einem Anstieg der Kontraktilität kommt. Bowditch beschrieb diese Kraft-Frequenz Beziehung bereits 1871 an isolierten Muskeln. Der positiv inotrope Frequenzeffekt ist ebenfalls (wie bei Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration und α_1 -Stimulation) vergesellschaftet mit einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration und ist inhibierbar durch Antagonisten des langsamen Kalziumeinstromes (z.B. D600=Methoxyverapamil). Er ist somit abhängig von einem extrazellulären Kalziumeinstrom (Siegl 1986).

Endoh et al. (1975) untersuchten die Wirkung des Methoxamin an Papillarmuskeln von Kaninchenherzen bei verschiedenen Stimulationsfrequenzen. Die Erhöhung der Frequenz führte zu einem Anstieg der Druckentwicklung vor Versuchsbeginn, ähnlich wie es in der vorliegenden Arbeit zu einem Anstieg von $LVdP/dt_{max}$ durch Erhöhung der Kalziumkonzentration kommt. Endoh et al. fanden heraus, daß die Methoxaminwirkung auf die Druckentwicklung der Papillarmuskeln umso stärker abnahm, desto höher die Stimulationsfrequenz zu Versuchsbeginn eingestellt wurde. In einer anderen Arbeit zeigen Endoh et al., daß die positiv inotrope Wirkung der α_1 -Stimulation durch D600 hemmbar ist (Endoh et al 1975).

Ähnliche Beobachtungen machten Ledda et al (1975), welche die Frequenzabhängigkeit der inotropen Wirkung von Phenylephrin (einem nicht-selektiven α_1 - Agonist) untersuchten: Phenylephrin wirkte bei niedriger Frequenz (1 Hz-Stimulation) signifikant stärker positiv inotrop als bei hoher Frequenz (2.5 Hz-Stimulation).

Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Abhängigkeit der Methoxaminwirkung von der extrazellulären Kalziumkonzentration sowie die in der Literatur beschriebene Frequenzabhängigkeit spricht für einen Einstrom extrazellulären Kalziums als Ursache der positiv inotropen Wirkung des Methoxamin. Bei bereits erhöhtem transsarkolemmalen Kalziumeinstrom (durch erhöhte Frequenz oder erhöhte extrazelluläre Kalziumkonzentration) ist die Wirkung des Methoxamin auf die Inotropie geschwächt. Zusätzlich ist möglicherweise auch eine inhibitorische Wirkung des Kalziums auf die α_1 -Signaltransduktion an der beobachteten Schwächung der Wirkung bei Erhöhung der Kalziumkonzentration von 1,25 auf 2,5 mmol/l Ca^{2+} beteiligt.

zu b): Da die positiv inotrope Wirkung der α_1 -Stimulation durch Erhöhen der Kalziumkonzentration von 1,25 auf 2,5 mmol/l Ca^{2+} gemindert wird (s.o.), wäre zu erwarten,

daß bei weiterer Erhöhung der Kalziumkonzentration die positiv inotrope Wirkung weiter geschwächt wird bzw. ganz ausbleibt. Wider Erwarten zeigt sich in der Versuchsgruppe mit 8,75 mmol/l Ca^{2+} ein Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ um 12,1%. Dieser Anstieg ist umso erstaunlicher, da $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ durch das Erhöhen der Kalziumkonzentration bereits vor Methoxamingabe nahe an der maximal mit Kalzium erreichbaren Grenze der Inotropiesteigerung und gleichzeitig über den bisherigen mit Methoxamin erreichten Maximalwerten lag (vgl. Abb. 46). Dies ist das erste mal, daß bei so hoher Kalziumkonzentration ein positiv inotroper Effekt durch α_1 -Stimulation gezeigt wird: Shavit et al. (1986) fanden an Vorhofmuskulatur von Ratten bereits bei Kalziumkonzentrationen von 7 mmol/l Ca^{2+} keine Inotropieänderung mehr nach α_1 -Stimulation; an linksventrikulären Rattenmyozyten (Capogrossi et al. 1991) war schon bei 5 mmol/l Ca^{2+} keine inotrope Wirkung einer α_1 -Stimulation mehr feststellbar.

Der Grund für diese verschiedenen maximalen Kalziumkonzentrationen, bei denen nach α_1 -Stimulation noch ein Effekt zu sehen ist, sind wohl die verschiedenen Versuchsmethoden. Hierbei lassen die Daten der vorliegenden Arbeit am ehesten Rückschlüsse auf die Situation in vivo zu, da sie am intakten Herzen gewonnen wurden.

Die α_1 -Signaltransduktion verläuft im wesentlichen über zwei Wege (siehe Einleitung): über die Proteinkinase C und über IP-3. Die Aktivität der PKC ist, wie oben diskutiert, kalziumabhängig. IP3 ist ein second messenger der an sarkoplasmatische Rezeptoren bindet. Ob dieser durch IP3 vermittelte Weg auch durch Kalzium beeinflussbar ist, wurde noch nicht untersucht. Das vorliegende Ergebnis mit einem Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ bei 8,75 mmol/l Ca^{2+} zeigt jedoch, daß nicht die komplette α_1 -Wirkung in dem Maße kalziumabhängig ist, wie dies zuvor der Vergleich der Versuchsgruppen bei 1,25 und 2,5 mmol/l Ca^{2+} vermuten ließ.

zu c): Der im vorigen Abschnitt beschriebenen Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ bei 8,75 mmol/l Ca^{2+} könnte auch Ausdruck eines kalziumsensitivierenden Effektes der α_1 -Stimulation sein. Um dies weiter zu untersuchen, wurde in einer Versuchsgruppe die Kalziumkonzentration auf 10 mmol/l Ca^{2+} erhöht. Bei dieser Konzentration entfaltet Kalzium in diesem Versuchsmodell seine maximale inotrope Wirkung (Ergebnisse der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Schmidt). Eine Substanz, die bei dieser Kalziumkonzentration noch eine positiv inotrope Wirkung zeigt, kann im Prinzip nicht mehr über eine intrazelluläre Kalziumvermehrung positiv inotrop wirken; dazu müßte sie vielmehr eine effektivere myofibrilläre Verwertung des vorhandenen

Kalziums bewirken. Eine solche Substanz wird in der gängigen Literatur als „calcium-sensitizer“ bezeichnet.

In der vorliegenden Arbeit ist jedoch bei 10 mmol/l Ca^{2+} kein positiv inotroper Effekt durch Methoxamin mehr meßbar. Hier muß jedoch einschränkend bemerkt werden, daß es in dieser Versuchsgruppe zu einem Anstieg der Herzfrequenz kommt, was in keiner der übrigen Versuchsgruppen zu finden ist. Die Ursache ist unklar; möglicherweise spielt aber die in dieser Versuchsgruppe bereits zu Beginn relativ niedrige Ausgangsfrequenz eine Rolle, die eine Frequenzsteigerung demaskiert. Die Wirkung des Methoxamin auf die Herzfrequenz wird aber später noch gesondert erläutert. Im Zusammenhang mit der Inotropiewirkung durch eine mögliche effektivere Kalziumverwertung ist hier zu bemerken, daß bei Ratten ein Anstieg der Herzfrequenz einen Abfall der Inotropie bewirkt (negative Kraft-Frequenz-Beziehung der Rattenherzen).

In Untersuchungen von Morii et al. (1996) an Rattenmyocyten führte eine steigende Stimulationsfrequenz trotz Anstieg von Kalziumströmen zu einem Abfall von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$. Der gleichzeitig gemessene intrazelluläre pH-Wert fiel ebenfalls ab. Morii et al. vermuteten deshalb, daß bei Rattenherzen ein Anstieg der Herzfrequenz die Effektivität der myofibrillären Kalziumverwertung sinken läßt durch einen Abfall des pH-Wertes. Das der pH-Wert Einfluß hat auf die myofibrilläre Kalziumverwertung, wurde u.a. von Parsons et al. (1997) gezeigt.

Es wäre deshalb möglich, daß durch die negative Wirkung eines Frequenzanstiegs auf die Inotropie bei Rattenherzen ein Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ in der Versuchsgruppe mit 10 mmol/l Ca^{2+} verdeckt wird.

Zusammengefaßt ergeben sich folgende Befunde: Methoxamin bewirkt beim isoliert arbeitenden Rattenherz einen Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$. Diese Wirkung ist abhängig von der extrazellulären Kalziumkonzentration und besonders ausgeprägt bei niedrigen Kalziumkonzentrationen (vgl. Wirkung bei 1,25 - 2,5 - 8,75 mmol/l Ca^{2+}). Bei 10 mmol/l Ca^{2+} findet sich unter Methoxamin bei steigender Herzfrequenz kein Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ mehr.

Hinweise für eine effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung finden sich nicht. So findet sich bei maximal inotroper Kalziumkonzentration (10 mmol/l Ca^{2+}) kein Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$.

Außerdem stellten wir in der Einleitung die Hypothese auf, daß eine Substanz, welche unabhängig von der Kalziumkonzentration positiv inotrop wirkt (durch effektivere Verwertung des vorhandenen Kalziums) bei verschiedenen Kalziumkonzentrationen einen ähnlich starken positiv inotropen Effekt hat. Ein solcher Effekt zeigte sich jedoch ebenfalls nicht; bei den unterschiedlichen Kalziumkonzentrationen war jeweils ein unterschiedlicher Anstieg von $LVdP/dt_{max}$ zu beobachten.

Hierbei sind jedoch zwei Einschränkungen zu bedenken: Zum einen kam es in der Versuchsgruppe mit $10 \text{ mmol/l Ca}^{2+}$ zu einem Anstieg der Herzfrequenz, so wurde u.U. eine positiv inotrope Wirkung verhindert (s.o.).

Zum anderen ist zu hinterfragen, ob die Kontraktionsgeschwindigkeit der passende Parameter ist zur Beurteilung einer Inotropiesteigerung, wenn diese durch eine effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung bewirkt wurde. Diese kann wie in der Einleitung erwähnt sowohl durch eine veränderte Querbrückendynamik oder eine erhöhte Kalziumaffinität des Troponin C bedingt sein. Bis jetzt ist nicht geklärt, ob und welche Auswirkungen dies hat auf $LVdP/dt$.

Methoxaminwirkung auf $LVdP/dt_{max}$ bei $31 \text{ }^\circ\text{C}$

Durch die Untersuchung der Methoxaminwirkung bei verschiedenen Kalziumkonzentrationen konnte die Abhängigkeit der α_1 -Wirkung auf $LVdP/dt_{max}$ von einer Erhöhung der Kalziumkonzentration als prinzipiellen Mechanismus zur Inotropiesteigerung am Ganzherz gezeigt werden. Deutliche Zeichen für eine effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung, dem zweiten prinzipiellen Mechanismus zur Erhöhung der Kontraktilität, fanden sich nicht (siehe vorherigen Abschnitt).

Als Gegenprobe untersuchten wir die Wirkung von Methoxamin auf $LVdP/dt_{max}$ in leichter Hypothermie ($31 \text{ }^\circ\text{C}$ statt $37 \text{ }^\circ\text{C}$). Eine Erniedrigung der Temperatur ist eine günstige und einfach anwendbare Methode, um die Effektivität der myofibrillären Kalziumverwertung zu erhöhen und so die Abhängigkeit der inotropen Methoxaminwirkung von diesem Prinzip der Kontraktilitätssteigerung zu überprüfen. Dazu folgende Erläuterung:

Vahl et al. (1991) untersuchten den Einfluß der Temperatur ($32 \text{ }^\circ\text{C}$ und $22 \text{ }^\circ\text{C}$) auf das kontraktile Verhalten von demembranisierten Papillarmuskeln von Schweinen. Sie beobachteten eine Linksverschiebung der Kalzium-Kraft-Kurve bei $22 \text{ }^\circ\text{C}$ gegenüber $32 \text{ }^\circ\text{C}$ und führten diesen Effekt zurück auf eine erhöhte Effektivität der myofibrillären Kalziumverwertung. Sprung et al. (1994) maßen an Purkinjefasern von Kaninchen

Kontraktilität und Kalziumströme bei 35 °C und 25 °C. Da es trotz einem geringen Anstieg der Kalziumströme bei 25°C zu einem vergleichsweise großem Anstieg der Kontraktionskraft kam, schlossen auch sie auf eine effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung als Ursache. Kusuoka et al. (1991) registrierten an isolierten Kaninchenherzen eine Zunahme der maximal durch Kalzium erreichbaren Steigerung der Kontraktionskraft bei Erniedrigung der Temperatur von 38 °C auf 31 °C.

Auch in den vorliegenden Versuchen gibt es einen Hinweis dafür, daß es durch die Senkung der Temperatur zu einer effektiveren myofibrilläre Kalziumverwertung kommt: So ist die Verzögerung der ventrikulären Relaxation ($LVdP/dt_{min}$ fällt bei Temperaturenniedrigung von 37°C auf 31°C um 45%) möglicherweise durch eine erhöhte Kalziumaffinität bedingt. Auch Mattheussen et al. (1996) beobachteten eine Abnahme der Relaxationsgeschwindigkeit bei Erniedrigung der Temperatur; diese Beeinträchtigung der Relaxation war jedoch unter dem β_1 -Agonisten Isoproterenol reversibel. Die Wirkung von β_1 -Agonisten auf die myokardiale Kontraktilität ist genau untersucht. So führt die Stimulation von β_1 -Rezeptoren u. a. zu einer beschleunigten Relaxation durch Erniedrigung der Kalziumaffinität der Myofilamente. Deshalb vermuteten Mattheussen et al., daß die hypothermieinduzierte Abnahme der Relaxationsgeschwindigkeit durch eine erhöhte Kalziumaffinität entsteht, welche durch Isoproterenol wieder aufgehoben wird.

Sicher ist die hypothermieverursachte Änderung der kontraktilen Eigenschaften des Herzens nicht ausschließlich auf eine effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung zurückzuführen (Einzelheiten siehe Stowe et al. 1999); auch ist die Ursache der effektiveren myofibrillären Kalziumverwertung durch Hypothermie letztlich unklar (Erhöhte Kalziumaffinität des Troponin C? Veränderte Querbrückendynamik?). Es galt jedoch mit einer möglichst einfachen Methode die Wirkung des Methoxamin, welche ja auch durch eine effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung mitbestimmt sein soll, bei bereits erhöhter Effizienz der Kalziumverwertung zu untersuchen. Wäre die inotrope Wirkung des Methoxamin durch erhöhte Effektivität der myofibrillären Kalziumverwertung sehr dominant, so sollte sich in Hypothermie eine Schwächung zeigen.

Dies ist aber nicht der Fall: Die hier erstmals durchgeführte Untersuchung der α_1 -Wirkung in Hypothermie am isoliert arbeitenden Rattenherz zeigt, daß die Wirkung des Methoxamin auf $LVdP/dt_{max}$ bei 31°C verglichen mit der Wirkung bei 37°C vollständig erhalten ist: Es werden etwa die gleichen Maximalwerte erreicht. Betrachtet man die Prozentwerte, so zeigt sich, daß

es bei Hypothermie sogar zu einer Verstärkung der Methoxaminwirkung auf LVdP/dt_{\max} kommt: Die LVdP/dt_{\max} -Kurve ist bei 31°C gegenüber 37°C nach links und oben verschoben (siehe Abb. 47). Demnach hat die Wirkung von Methoxamin auf die Inotropie zugenommen, so daß schon geringere Methoxaminkonzentrationen einen positiv inotropen Effekt bewirken. Der LVEDP ändert sich nicht signifikant.

Untersuchungen am Papillarmuskel vom Kaninchen bei 37°C und 32°C nach α_1 -Stimulation (Endoh et al. 1977) bestätigen die vorliegenden Ergebnisse: Auch hier zeigte sich eine Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve bei Temperaturniedrigung.

Abbildung 47

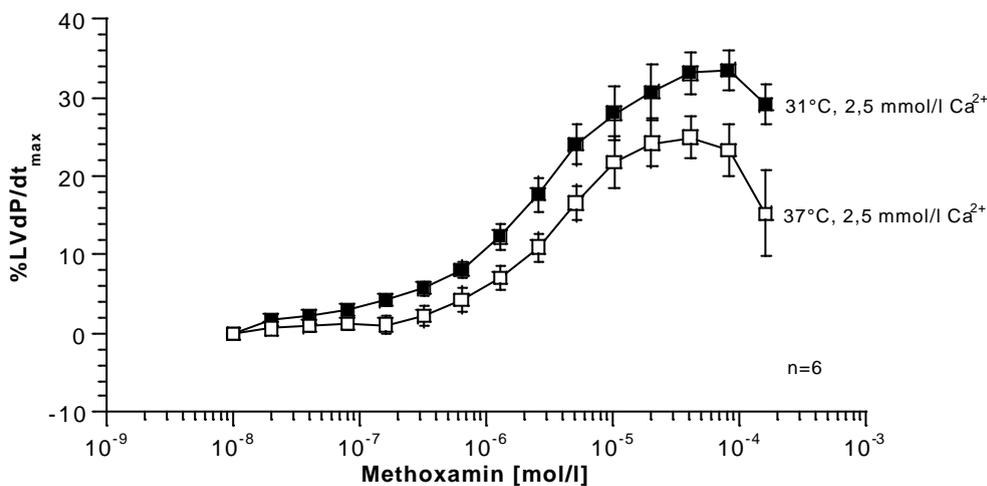


Abb. 47: Prozentwerte der Wirkung von Methoxamin auf die linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit bei 37°C und 31°C .

Bei 31°C ist die Wirkung verstärkt.

Damit reiht sich Methoxamin in eine Gruppe von Substanzen ein, die ebenfalls eine höhere inotrope Potenz in leichter Hypothermie zeigen: So ist auch die inotrope Wirkung von β_1 -Agonisten in Hypothermie verstärkt (Mori et al. 1979 / Chess-Williams et al. 1985) sowie die Wirkung von Kalzium (Vahl et al. 1991), Adrenalin und Dobutamin (Riishede et al. 1990).

Zusammengefaßt profitiert die inotrope Wirkung des Methoxamin sowie die inotrope Wirkung von Substanzen, welche die intrazelluläre Kalziumkonzentration erhöhen, von einer Temperaturniedrigung. Die Ursache hierfür ist auf veränderte myokardiale Kontraktionseigenschaften während Hypothermie zurückzuführen, dazu gehört u.a. eine effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung.

Zu diskutieren ist darüberhinaus der Befund, daß es in der vorliegenden Arbeit durch Erniedrigung der Temperatur von 37°C auf 31°C zu einem signifikanten Abfall von $LVdP/dt_{max}$ von 4917±224 mmHg/s auf 4445±150 mmHg/s (-9,6%) mit Anstieg des enddiastolischen Ventrikeldruckes (+71%) kommt. Auch Mattheussen et al. (1996, isoliertes Kaninchenherz (nach Langendorff)) und Greene et al. (1989, in-vivo Untersuchungen am Schweineherz) sowie Riishede et al. (1990) beobachteten beim Abkühlen von 37°C auf 30°C bzw. 38°C auf 34°C bzw. 37 auf 22°C einen Abfall der Kontraktionsgeschwindigkeit.

In der Literatur jedoch finden sich die Beobachtungen in der Mehrzahl, bei denen es durch Herabsetzen der Temperatur zu einem Anstieg der Kontraktilität kommt. Diese Berichte gehen zurück bis auf Langendorff, der 1897 das erste mal einen solchen Effekt bei isolierten Rattenherzen beschrieb, die auf 20°C abgekühlt wurden (Langendorff 1897). Untersuchungen am Ganzherz von Hunden (Monroe et al. 1964) sowie an Papillarmuskeln von Katzen (Trautwein et al. 1954), Kaninchen (Langer et al. 1968) und isolierten Rattenherzen (Fukunami et al. 1989) bestätigten die Ergebnisse von Langendorff.

Ursache dieses scheinbaren Widerspruchs sind wahrscheinlich verschiedene Versuchsmethoden: Tierspezies und Versuchsobjekt (z.B. Ganzherz oder Papillarmuskeln) haben möglicherweise einen Einfluß auf die Ergebnisse. Insbesondere die zur Beurteilung der Kontraktilität benutzte Variable ist hierbei von Bedeutung: So untersuchten Fukunami et al. (1989) isolierte Rattenherzen bei verschiedenen Temperaturen unter Aufzeichnung von $LVdP/dt_{max}$ und E_{max} (ein weiterer Kontraktilitätsindex, welcher das endsystolische Druck-Volumenverhältnis beschreibt). Interessanterweise zeigte sich ein Anstieg von E_{max} um 26,4% beim Kühlen von 37°C auf 31°C, während gleichzeitig $LVdP/dt_{max}$ um 16,8% fiel. Somit führt Hypothermie einerseits zu einem positiv inotropen Effekt, andererseits zu einem negativ inotropen, je nachdem, welcher Parameter betrachtet wird.

Positiv lusitrope Wirkung des Methoxamin

Die in dieser Arbeit verwandten Parameter zur Beschreibung des Relaxationsprozesses sind die Druckfallgeschwindigkeit $LVdP/dt_{min}$ und die Zeitkonstante τ , die ab dem steilsten Punkt des Druckabfalles berechnet wird. Sie beschreiben jeweils unterschiedliche Phasen des

Relaxationsprozesses, wobei ein Anstieg von $LVdP/dt_{min}$ und ein Abfall von τ für eine beschleunigte Relaxation sprechen und vice versa (Langer et Schmidt 1998).

Bei 37°C ist die Methoxaminwirkung auf die kardiale Relaxation insgesamt wenig ausgeprägt und nur vereinzelt signifikant: Bei 2,5 mmol/l Ca^{2+} ist ein nicht signifikanter Anstieg von $LVdP/dt_{min}$ um 14,3% zu beobachten; bei 8,75 mmol/l Ca^{2+} findet sich ebenfalls ein Anstieg um 13,8% (signifikant 13. Dosis); bei 10 mmol/l Ca^{2+} ändert sich $LVdP/dt_{min}$ praktisch nicht, auch bei 1,25 mmol/l Ca^{2+} bleibt $LVdP/dt_{min}$ unter Methoxamin zunächst konstant und fällt bei hohen Methoxaminkonzentrationen um 10%. Die Relaxationszeitkonstante τ (ms) ändert sich in keiner der Versuchsgruppen bei 37°C bedeutend, nur bei 8.75 mmol/l Ca^{2+} zeigt sich ein signifikanter Abfall.

Um die Wirkung von Methoxamin auf $LVdP/dt_{min}$ weiter zu untersuchen, wurden in einer Versuchsgruppe die Herzen auf 31°C abgekühlt. Die Temperaturminderung führte zu einer verzögerten Relaxation des Ventrikels mit einem Abfall von $LVdP/dt_{min}$ um 45% und t-Anstieg um 70%, während $LVdP/dt_{max}$ nur um 9,6% fiel. Dies liegt an den unterschiedlichen Kalziumtransportsystemen für Kontraktion und Relaxation. So kommt es bei der Kontraktion zu einem passiven Einstrom des Kalziums durch Kalziumkanäle entlang eines Konzentrationsgradienten, wobei durch einen Kalziumkanal ca. 3 Millionen Kalziumionen/sec. strömen. Während der Relaxation hingegen werden die Kalziumpumpen am sarkoplasmatischen Retikulum aktiv, wobei eine Kalziumpumpe unter Verbrauch von ATP ca. 30 Ionen/sec. befördert. Das quantitative Mißverhältnis beim Kalziumtransport während Kontraktion und Relaxation wird kompensiert durch eine große Zahl von Kalziumpumpen am sarkoplasmatischen Retikulum (ca. 6000/ μm). Der Relaxationsprozeß ist jedoch anfälliger für Situationen, in denen es durch ein Mißverhältnis von ATP-Produktion und ATP-Verbrauch zu einem ATP-Defizit kommt (z.B. in hypertrophierten Herzen oder bei Ischämie) und anfälliger für Situationen, in denen es zu einer Verlangsamung der Stoffwechselprozesse kommt, z.B. durch Hypothermie. Die Aktivität von Enzymen nimmt um jeweils 50% ab pro 10°C Temperatursenkung (Belzer et al. 1988).

Eine Ursache für die verlangsamte Relaxation bei Temperatursenkung auf 31°C ist damit sicherlich eine verminderte Aktivität der sarkoplasmatischen Kalzium-ATPase. Ein weiterer Grund für die Verzögerung der Relaxation während Hypothermie ist eine Zunahme der Kalziumaffinität der Myofilamente (s.o.).

Wird den Rattenherzen bei 31°C Methoxamin in steigender Dosis verabreicht, so steigt $LVdP/dt_{min}$ (bei niedrigeren Ausgangswerten als bei 37°C) signifikant um 48% und τ fällt signifikant um 40% und damit wesentlich deutlicher als in den Versuchen bei 37 °C, ohne jedoch die Ausgangswerte bei 37°C zu erreichen. Der α_1 -Agonist Methoxamin beschleunigt demnach prinzipiell die Relaxation des linken Ventrikels, wenngleich dieser Effekt bei 37 °C nicht eindeutig nachweisbar ist.

Die bisherigen Untersuchungen zur myokardialen Relaxation bei α_1 -Stimulation zeigen widersprüchliche Ergebnisse. So wird keine (beim isolierten Kaninchenherz) oder eine negativ lusitrope Wirkung (bei Präparaten von Katzen-, Kaninchen-, und Hundeherzen) beschrieben. Untersuchungen an Vorhofmuskulatur und Papillarmuskeln von Ratten hingegen zeigen eine positiv lusitrope Wirkung (siehe Tabelle 3).

Die widersprüchlichen Ergebnisse (positiv lusitrop - negativ lusitrop) sind wahrscheinlich auf speziesspezifische Ursachen (negativ lusitrop bei Katzen, Kaninchen und Hunden, positiv lusitrop bei Ratten) zurückzuführen. Dabei dürften die unterschiedlichen α_1 -Rezeptordichten

Tabelle 3: Lusitrope Wirkung der α_1 -Stimulation.

<i>Spezies</i>	<i>Substanz</i>	<i>Gewebe</i>	<i>Resultat</i>	<i>Referenz</i>
Katze	Phenylephrin	Papillarmuskel	neg. lusitrop	Vila-Petrof et al. 1996
				Pedroni et al. 1987
Kaninchen	Phenylephrin	Linkes Atrium	neg. lusitrop	Benfey et al 1977
	Noradrenalin	Papillarmuskeln	neg. lusitrop	Skomedal et al. 1990
	Phenylephrin	linker Ventrikel	keine Wirkung	Aoyagi et al. 1991
Ratte	Phenylephrin	linksv. Papillarmuskel	pos. lusitrop	el Amrani 1990 /1989
				Skomedal T et al 1982
	Phenylephrin	Atrium	pos. lusitrop	Osnes et al 1978
	Phenylephrin	Herz in situ	pos. lusitrop	Li et al. 1990

bei den einzelnen Tierarten (höchste α_1 -Rezeptordichte bei Ratten) ebenso eine Rolle spielen wie das speziesspezifische Verteilungsmuster der Subtypen des α_1 -Rezeptors (α_{1a} , α_{1b} , α_{1d}), hier besteht noch Forschungsbedarf. Auch die verwendeten Substanzen dürften mitverantwortlich sein: So sind fast alle Arbeiten, bei denen die Relaxationswirkung untersucht wurde, mit Phenylephrin in Kombination mit einem β -Blocker durchgeführt worden, in einer Arbeit mit Noradrenalin plus β -Blocker, wobei eine Restaktivität der β -Rezeptoren nicht auszuschließen ist.

Eine Untersuchung der myokardialen Relaxation nach α_1 -Stimulation am isoliert arbeitenden Ganzherz der Ratte wurde bis jetzt noch nicht durchgeführt. So wird hier das erste mal eine positiv lusitrope Wirkung durch α_1 -Stimulation anhand zweier Parameter (t und $LVdP/dt_{min}$) beschrieben, die aufgrund der verwendeten Substanz (Methoxamin) sicher tatsächlich α_1 -vermittelt ist und aufgrund der Versuchsmethodik (isoliert arbeitendes Ganzherz) am ehesten der in-vivo-Situation entspricht. Die Arbeit von Li et al. (1990), welche ein Rattenherz in situ untersuchten, wurde ebenfalls mit Phenylephrin durchgeführt, wobei auch dort das Problem der kompletten β -Blockade bestand. Da es in ihren Versuchen u. a. auch zu einem Anstieg der Herzfrequenz kam, ist eine suffiziente Blockade anzuzweifeln, da α_1 -Stimulation normalerweise nicht zu einem Anstieg der Herzfrequenz führt (s.u.).

Wie könnte die in der vorliegenden Arbeit beobachtete positiv lusitrope Wirkung von Methoxamin entstehen? Prinzipiell wird der Relaxationsvorgang (wie auch die Kontraktion) bestimmt durch das An- und Abfluten der Kalziumionen am Troponin C bzw. im Zytosol und durch die Kalziumaffinität der kontraktilen Proteine (Modersohn et al. 1993). Im Einzelnen sind daran mehrere Vorgänge beteiligt. Die Hauptrolle spielt die sarkoplasmatische Kalziumpumpe, welche durch Phospholamban reguliert ist: Wird Phospholamban durch eine cAMP- oder Ca^{2+} -Calmodulin aktivierte Kinase phosphoryliert, kommt es zu einer Erhöhung der Kalziumtransportgeschwindigkeit in das sarkoplasmatische Retikulum durch Aktivierung der sarkolemmalen Ca^{2+} -ATPase und damit zu einer beschleunigten Relaxation. Auf diese Weise (Phosphorylierung des Phospholambans) wirken z.B. β -Rezeptoragonisten relaxationsbeschleunigend. Desweiteren existieren Kalziumtransportsysteme in der Plasmamembran und der Na^+/Ca^{2+} -Austauscher, die das Kalzium in den Extrazellulärraum transportieren. Ein weiterer Mechanismus zur Erhöhung der Relaxationsgeschwindigkeit ist eine Verminderung der Kalziumaffinität des Troponin C, so daß sich das Kalzium schneller vom TnC löst. Ein solcher Effekt wird z.T. auch für die relaxationsbeschleunigende Wirkung der β -Receptor-Agonisten verantwortlich gemacht.

Die Wirkung von Substanzen, welche die Relaxationsgeschwindigkeit des Herzmuskels erhöhen, wie z.B. β -Agonisten, wird als positiv lusitrop bezeichnet. Die Relaxationsgeschwindigkeit / lusitrope Aktion ist eine bedeutende Determinante für die Koronarperfusion und die schnelle diastolische Füllung des Ventrikels, bei β -Rezeptoren ist die positiv lusitrope Aktion auch Voraussetzung für die Erhöhung der Herzfrequenz (Kogler et al. 1997). Negativ lusitrop wirkende Substanzen, dazu gehören im Besonderen auch solche, welche die Kalziumaffinität erhöhen wie z.B. EMD 53998 (Webster et al. 1993), einem

"calcium-sensitizer", führen hingegen zu einer Einschränkung der diastolischen Herzfunktion, indem sie den Relaxationsprozeß verzögern. Deshalb wird auch die klinische Anwendbarkeit von calcium-sensitizern in Frage gestellt (Webster et al. 1993).

Bei der beobachteten positiv lusitropen Wirkung durch α_1 -Stimulation spielt das oben erwähnte Phospholamban offenbar keine Rolle: Hartmann et al. (1992) fanden an isolierten Rattenmyocyten, daß weder Methoxamin noch direkte Stimulierung der Proteinkinase C mit dem Proteinkinase C-Aktivator 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetat (TPA) zu einer Zunahme der Phosphorylierung von Phospholamban führten; Edes et al. (1991) fanden, daß im Langendorff - perfundiertem Meerschweinchenherz Phospholamban nicht von der Proteinkinase C phosphoryliert wird.

In vitro allerdings wurde gezeigt, daß Phospholamban Substrat der Proteinkinase C ist. Dieser Widerspruch zwischen den in vivo-in vitro Ergebnissen wurde zurückgeführt auf eine Translokation der Proteinkinase C zur Zellwand nach in-vivo Aktivierung, so daß aufgrund der räumlichen Entfernung zum sarkoplasmatischen Retikulum keine Phosphorylierung des Phospholambans durch die Proteinkinase C mehr möglich ist.

Möglich wäre eine Stimulierung der Ca^{2+} -ATPase oder des $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauschers durch Kalzium. So zeigen Versuche der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Schmidt an isoliert arbeitenden Rattenherzen einen positiv lusitropen Effekt bei Erhöhung der Kalziumkonzentration in Hypothermie (31°C). Bei 37°C tritt eine positiv lusitrope Wirkung durch Kalzium nur sehr schwach auf. Auch Methoxamin bewirkt bei 37°C nur eine schwach lusitrope Wirkung, die bei Hypothermie jedoch deutlich zunimmt.

Man könnte vermuten, daß es durch die Hypothermie zu einer stärkeren Ansprechbarkeit der Kalzium-transportierenden Systeme für Veränderungen der intrazellulären Kalziumkonzentration kommt. Auch die α_1 -Stimulation führt zu einer Erhöhung der intrazellulären Kalziumionenkonzentration bei Ratten (Zhang et al. 1998, Eckel et al. 1991). Der in der vorliegenden Arbeit beobachtete positiv lusitrope Effekt durch Methoxamin könnte demnach eine Kalziumwirkung sein. Hier wären jedoch weitere Untersuchungen nötig (z.B. eine vergleichende Untersuchung zur Wirkung von Digitalis auf die Relaxationszeit bei Hypothermie; auch Digitalis wirkt bei Normaltemperatur nicht auf die Relaxationszeit, erhöht aber die intrazelluläre Kalziumionenkonzentration).

Bezüglich des Zusammenhangs zwischen myokardialer Relaxation und myofibrillärer Kalziumverwertung ist zu bemerken, daß die beobachtete beschleunigte Relaxation gegen eine ausgeprägte Erhöhung der Kalziumaffinität durch Methoxamin spricht. Wäre dies der Fall, müßte man eine negativ lusitrope Wirkung erwarten, wie dies für andere Substanzen, welche die Kalziumaffinität erhöhen, beschrieben wurde (Zimmermann et al. 1998, Hgashiyama et al. 1995). Demnach wäre zu folgern, daß Methoxamin, wenn es tatsächlich eine effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung bewirkt, dies durch eine optimierte Querbrückendynamik geschieht.

Unspezifische Wirkungen des Methoxamin beim Meerschweinchen und der Ratte

Beim Meerschweinchen zeigt Methoxamin keinen stimulierenden Effekt auf die linksventrikuläre Funktion. Es findet sich im Gegenteil eine Minderung der Kontraktilität und ein Ansteigen des enddiastolischen Druckes.

Tabelle 2 gibt eine Übersicht über bisherige Untersuchungen am Meerschweinchen.

Die Berichte über Wirkungen der α_1 -Stimulation am Myokard von Meerschweinchen sind uneinheitlich: Während bei atrialer Muskulatur konstant ein positiv inotroper Effekt gefunden wird, zeigen die Untersuchungen an Papillarmuskeln und Ventrikelstrippen sowie an ventrikulären Einzelzellen entweder keine, negative oder positive Effekte. Ursache dieses Widerspruchs könnte eine unterschiedliche intrakardiale Rezeptordichte beim Meerschweinchen sein, wobei offenbar im linken Ventrikel keine bzw. für eine meßbare inotrope Wirkung nicht ausreichend α_1 -Rezeptoren vorhanden sind. So fanden Arreola et al. (1994), die die Wirkung von Methoxamin an Papillarmuskeln vom linken und rechten Ventrikel testeten, nur im rechten Ventrikel eine positiv inotrope Wirkung.

Außerdem fällt auf, daß die Arbeiten, in denen in Ventrikelmuskulatur ein positiv inotroper Effekt gefunden wurde, mit Phenylephrin durchgeführt wurden. Phenylephrin hat neben α_1 -Rezeptor-agonistischen auch β -Rezeptor-agonistische Eigenschaften, welche zur Beurteilung der α_1 -Rezeptoren ausreichend geblockt sein müssen. Mit Methoxamin als Agonisten findet sich nur im rechten Ventrikel ein positiv inotroper Effekt.

Die vorliegenden Daten zeigen, daß Methoxamin in hohen Konzentrationen ($8.3 \cdot 10^{-5}$ mmol/l) bei Meerschweinchen und Ratte kardiodepressiv wirkt: Es kommt zunächst zu einem Abfall

der Herzfrequenz, bei weiterer Dosiserhöhung fällt auch $LVdP/dt_{max}$ mit Anstieg des LVEDP. Die Relaxation wird weniger stark beeinträchtigt.

Tabelle 2: Untersuchungen an Präparaten von Meerschweinchen

bei α_1 -Stimulation. (M)=Methoxamin, (P)=Phenylephrin, pos= positiv inotrop, neg=negativ inotrop, no=keine Wirkung

<u>Gewebe</u>	<u>Effekt</u>	<u>Quelle</u>
Atrium	pos	Hattori Y 1982 (P) Chess-Williams RG 1987 (M) +1990 (P) Mori K 1979 (P)
ventrikuläre Muskelzellen	pos	Woo SH 1999 (P)
Papillarmuskel	pos	Shi Q 1989 (P)
	pos	Wagner and Brodde 1978
	no/neg	Chess-Williams RG 1987 (M) / 1990 (M) Sanchez-Chapula J 1981 (M) / Koga T 1989(P)
Papillarmuskel		
-rechter Ventrikel	pos	Arreola J et al. 1994 (M) / Hescheler J 1988 (P)
-linker Ventrikel	no	Arreola J et al. 1994 (M)
Ventrikelstrippen	no/neg	Chess-Williams RG 1987 (M)

Solche kardiodepressiven Wirkungen des Methoxamin wurden auch von anderen Forschergruppen beobachtet (Schühmann et al. 1974, Endoh and Schühmann 1975, Rabinowitz et al. 1975). Der negativ inotrope Effekt des Methoxamin trat auch auf nach α_1 -Blockade mit Phentolamin. Eigene Versuche mit Prazosin (einem α_1 -Blocker) am Rattenherz zeigen ebenfalls eine deutliche kardiodepressive Wirkung des Methoxamin (Abfall von $LVdP/dt_{max}$ um 22.3%). Insbesondere das Auftreten der kardiodepressiven Wirkung nach α_1 -Blockade zeigt, daß diese Wirkung des Methoxamin nicht α_1 -Rezeptor-vermittelt ist.

Parker et al. (1999) untersuchten diese unspezifische Wirkung des Methoxamin an Rattenmyocyten: Während Blockade der α_1 -Rezeptoren mit Prazosin bewirkte Methoxamin eine Hemmung von repolarisierenden Kaliumkanälen. Inwieweit dadurch eine negative

Beeinflussung der Kontraktilität entstehen kann, muß noch erforscht werden. Bei den vorliegenden Ergebnissen fällt auf, daß die kardiodepressive Wirkung bei hohen Kalziumkonzentrationen sowie niedriger Temperatur bei der Ratte geringer ausgeprägt ist als bei niedriger Kalziumkonzentration und Normaltemperatur. So fällt die Herzfrequenz bei 1,25 mmol/l Ca^{2+} und 2,5 mmol/l Ca^{2+} und 37°C schon mit der 10. Dosis, bei 2,5 mmol/l Ca^{2+} und 31° mit der 11. Dosis, bei 8,75 und 10 mmol/l Ca^{2+} erst mit der 13. Dosis; $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ fällt bei 1,25 und 2,5 mmol/l Ca^{2+} schon mit der 13. Dosis, bei 8,75 mmol/l Ca^{2+} und 31°C erst mit der 14. Dosis. Offenbar antagonisieren ein verstärkter Kalziuminflux durch höhere extrazelluläre Kalziumkonzentration bzw. ein verminderter Kalziumefflux durch niedrigere Temperatur die unspezifische kardiodepressive Wirkung.

Zusammengefaßt findet sich im Unterschied zum Rattenherz beim Meerschweinchen kein positiv inotroper Effekt nach α_1 -Stimulation mit Methoxamin. Es zeigt sich eine kardiodepressive Wirkung, die auch bei der Ratte bei hohen Methoxaminkonzentrationen zu sehen ist und die aufgrund ihres Auftretens während α_1 -Blockade mit Prazosin einer unspezifischen Wirkung des Methoxamin zuzuschreiben ist.

Sauerstoffverbrauch und Wirkungsgrad

In den Versuchsgruppen mit 1,25 /2,5 /8,75 mmol/l Ca^{2+} bei 37°C und in der Versuchsgruppe mit 2,5 mmol/l Ca^{2+} bei 31 °C findet sich jeweils ein zum Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ parallel verlaufender Anstieg des Sauerstoffverbrauchs unter Methoxamin. Am stärksten ist die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs in der Versuchsgruppe bei 1,25 mmol/l Ca^{2+} , in dieser Versuchsgruppe ist auch der stärkste Anstieg von $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ zu finden, darauf folgen entsprechend die Versuche bei 31°C, 2,5 mmol/l Ca^{2+} (Abb. 39) und 8,75 mmol/l Ca^{2+} (Abb. 22). Die Herzfrequenz war dabei in diesen Versuchsgruppe nahezu konstant und fiel zu Versuchsende ab, als auch die unspezifische kardiodepressive Eigenwirkung des Methoxamin einsetzte.

Der Anstieg des Sauerstoffverbrauchs in der Versuchsgruppe mit 10 mmol/l Ca^{2+} , in der $\text{LVdP/dt}_{\text{max}}$ nicht ansteigt, ist auf die in dieser Versuchsgruppe signifikant ansteigende Herzfrequenz zurückzuführen.

Der Wirkungsgrad fällt nahezu spiegelbildlich zum ansteigenden Sauerstoffverbrauch, dementsprechend am stärksten in der Versuchsgruppe mit 1,25 mmol/l Ca^{2+} und am schwächsten bzw. überhaupt nicht in der Versuchsgruppe bei 10 mmol/l Ca^{2+} .

Bei der Kontraktion braucht der Myozyt ATP bzw. Sauerstoff hauptsächlich in zwei Bereichen: einmal für die aktin-aktivierte Myosin-ATPase, um den elementaren Prozess der Kontraktion, das Filamentgleiten, zu ermöglichen, zum anderen für die Kalzium-ATPasen des Sarkolemm und des sarkoplasmatischen Retikulums, welche die intrazelluläre Kalziumkonzentration regulieren (Gibbs et al. 1995 / Grandis et al. 1995). Der Sauerstoffverbrauch des schlagenden Herzens steigt und fällt deshalb proportional sowohl zur Menge des intrazellulären Kalziums als auch zur Kontraktionskraft (Grandis et al. 1995). Es wird vermutet, daß ein Säugetierherz in Ruhe 25-45% der Energie für das "handling" des intrazellulären Kalziums aufbringen muß (Ponce-Hornos 1990, Suga 1990).

Anders ist dies nach Untersuchungen von Grandis et al. bei Substanzen, welche zu einer effektiveren Kalziumverwertung führen (calcium-sensitizer) und so die Inotropie steigern: Grandis et al. untersuchten an isolierten, sich isovolumetrisch kontrahierenden Herzen von Ratten den Sauerstoffverbrauch von EMD-57033. EMD-57033 ist eine Substanz, welche die Kontraktilität erhöht ohne Kalziumströme zu verstärken (Gambassi et al 1993). Es stellte sich heraus, daß EMD-57033 keinen signifikanten Effekt auf den Sauerstoffverbrauch hatte trotz eines deutlichen Anstiegs der Inotropie um 84%. Das in der gleichen Arbeit getestete Dobutamin hingegen verursachte einen deutlichen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs, wobei Dobutamin als β_1 -Rezeptor-Agonist die Inotropie durch Erhöhen der Kalziumströme steigert. Andere Stoffwechselprozesse, die den Sauerstoffverbrauch beeinflussen könnten, schloß die Gruppe durch wiederholte Messung zahlreicher Stoffwechselfparameter (u. a. Laktat und energiereiche Phosphate), welche während eines Versuches jeweils konstant blieben, weitgehend aus. Deshalb vermuteten Grandis et al., daß der verminderte Sauerstoffbedarf des EMD-57033 durch den fehlenden Kalziumeinstrom zu begründen ist. So zeigt ihre Arbeit, daß die zwei komplementären Mechanismen zur Erhöhung der Kontraktionskraft, einmal die Erhöhung der intrazellulären Kalziummenge und zum anderen die effektivere myofibrilläre Kalziumverwertung, markante Unterschiede im Sauerstoffverbrauch zeigen, wobei es durch Erhöhen der Effektivität der myofibrillären Kalziumverwertung zu einem deutlich niedrigeren Sauerstoffverbrauch kommt.

Der in der vorliegenden Arbeit beobachtete Sauerstoffverbrauch steigt unter Methoxamin in der Gruppe mit 2,5 mmol/l Ca^{2+} um +18% an (signifikant). Somit unterscheidet sich Methoxamin von EMD-57033 hinsichtlich des Sauerstoffverbrauches. Untersuchungen von α_1 -Stimulation an sich isovolumetrisch kontrahierenden Kaninchenherzen zeigen ebenfalls

einen signifikanten Anstieg des Sauerstoffverbrauchs (Teruhiko et al. 1991), was den hier gefundenen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs nach α_1 -Stimulation am arbeitenden Herz qualitativ bestätigt.

Nach dem oben erläuterten Zusammenhang zwischen Sauerstoffverbrauch und intrazellulärer Kalziumkonzentration ist der steigende Sauerstoffverbrauch unter Methoxamin als Hinweis dafür zu werten, daß Methoxamin die intrazelluläre Kalziumkonzentration erhöht. Deshalb kommt es anders als bei einer effektiveren myofibrillären Kalziumverwertung (siehe Ergebnisse von Grandis et al. 1995) zu einem zum Anstieg von $LVdP/dt_{max}$ parallelen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs.

Chronotrope Wirkung

Bei hoher Herzschlagfrequenz (um 280 Schläge/min) zeigt Methoxamin keine chronotrope Wirkung. Bei niedriger Herzschlagfrequenz (um 240 Schläge/min) und 37°C hingegen wirkt Methoxamin positiv chronotrop (+21%). Die niedrige Ausgangsfrequenz bei 10 mmol/l Ca^{2+} ist wahrscheinlich verursacht durch die versuchstechnisch bedingte Azidose, die zur Verhinderung eines Kalziumausfalls nötig war. Der bei hoher Methoxaminkonzentration (10^{-5} - $4 \cdot 10^{-5}$ mol/l) auftretende Frequenzabfall ist einer unspezifischen Wirkung des Methoxamin zuzuschreiben, da bei diesen Konzentrationen auch nach α_1 -Rezeptorblockade mit Prazosin ein Abfall der Frequenz auftritt (Endoh 1975).

Die chronotrope Wirkung des Methoxamin ist offenbar abhängig von der Ausgangsfrequenz: Nur bei niedrigen Ausgangsfrequenzen ist eine positive Frequenzwirkung vorhanden, die jedoch limitiert ist und nicht die übliche Spontanschlagfrequenz von Rattenherzen (um 280 Schläge/min) überschreitet.

Die Existenz von α_1 -Rezeptoren im Sinusknoten und Erregungsleitungssystem der Rattenherzen wurde von Saito et al. 1994 anhand quantitativer autoradiographischer Untersuchungen bewiesen. Die Literaturangaben zur chronotropen Wirkung der α_1 -Stimulation bei Ratten sind jedoch widersprüchlich, so gibt es Berichte von keiner (Weston 1971), negativ (Takemura et al. 1996, Nakano 1996) und positiv (Tung et al. 1985) chronotroper Wirkung. Berichte von positiv chronotropen Effekten stammen dabei meist von

Versuchen an Vorhofpräparaten, am Ganzherz ist nur bei pathologisch erniedrigter Frequenz ein positiver Frequenzeffekt zu sehen, z.B. bei Hypothyreose (Simpson et al. 1980), Azidose oder Hypothermie (Camilion de Hurtado et al. 1989).

Bevor nun die Ursachen des chronotropen Effekts diskutiert werden, sei zunächst zum besseren Verständnis ein Einblick in die Physiologie der kardialen Rhythmogenese gegeben.

Das Herz besitzt eine myogene Automatie (Autorhythmie): Die Erregung wird im Herzmuskel selbst gebildet. Ein eng umschriebener Muskelbezirk im rechten Vorhof bei der Einmündung der oberen großen Hohlvene, der Sinusknoten, ist für die Funktion der Erregungsbildung spezialisiert, er ist der primäre Schrittmacher des Herzens. Von dort greift die Erregung auf die Muskulatur beider Vorhöfe über.

Die Ursachen des Schrittmacherpotentials werden kontrovers diskutiert. Sie werden zurückgeführt auf den depolarisierenden Einfluß dreier Einwärtsströme, den des „hyperpolarisationsaktivierten“ Stromes (I_F) und der Kalziumströme vom L- und T- Typ.

Der sog. Schrittmacherstrom I_F ist ein einwärts gerichteter, depolarisierender Strom, der durch „nichtselektive“ Kationenkanäle fließt. Unter physiologischen Bedingungen wird I_F sowohl durch K^{+} - als auch Na^{+} -Ionen getragen. I_F trägt insbesondere zum Beginn der langsamen Schrittmacherdepolarisation bei. Katecholamine verschieben die Spannungsabhängigkeit der Inaktivierung zu stärker positiven Potentialen. Der erhöhte depolarisierende Einwärtsstrom steigert die Geschwindigkeit der Schrittmacherdepolarisation und verkürzt das Intervall zwischen den Aktionspotentialen, die Frequenz steigt (positiv chronotroper Effekt).

Der Kalziumstrom vom L-Typ ist für die letzte Phase der Schrittmacherdepolarisation bis zur Schwelle und für den Aufstrich des Aktionspotentials verantwortlich. Sympathikusreizung bzw. Katecholamine steigern den Kalziumstrom vom L-Typ (I_L), dadurch kommt es zu einer Beschleunigung des letzten Teils der Schrittmacherdepolarisation und des Aktionspotentialaufstrichs. So wird die Schwelle der Schrittmacherdepolarisation früher erreicht und der Abstand zwischen aufeinanderfolgenden Aktionspotentialen verringert sich. Am Sinus- und Atrioventrikularknoten erhöht die Amplitudensteigerung von I_L die Aufstrichgeschwindigkeit des Kalziumaktionspotentials. Aus der erhöhten Aufstrichgeschwindigkeit resultiert eine höhere Geschwindigkeit der Erregungsleitung (positiv dromotroper Effekt).

T-Kalzium-Kanäle befinden sich vor allem im Erregungsleitungssystem des Herzens (Hagiwara et al. 1988). Sie besitzen eine geringe Leitfähigkeit und öffnen sich nur vorübergehend (T steht für „transient“). Am Sinus- und Atrioventrikularknoten tragen die Kalziumströme durch T-Kanäle gemeinsam mit dem Strom I_F zur spontanen Erregungsbildung bei (Hagiwara et al. 1988), die vom maximalen diastolischen Potential ihren Ausgang nimmt. Hemmung des T-Kalziumstromes (z.B. mit Ro 40-5967 (Clozel et al. 1990)) verzögert die Schrittmacherdepolarisation und wirkt negativ chronotrop.

An der positiv chronotropen Wirkung der α_1 -Stimulation sind sehr wahrscheinlich die genannten T-Kalziumkanäle beteiligt. So zeigten Alvarez et al. (1992) an Vorhofzellen von Bullenfröschen, daß die Kalziumkanäle vom T-Typ durch α_1 -Stimulation aktiviert werden. Ob dies auch bei Rattenherzen der Fall ist, wurde noch nicht untersucht. Im Rattenatrium verhindert der Kalziumantagonist Nifedipin die α_1 -vermittelte positiv chronotrope Wirkung (Tung et al. 1985). Da Nifedipin auch Kalziumströme durch T-Kanäle vermindert (Alvarez et al. 1992), ist zu vermuten, daß der Frequenzeffekt einer α_1 -Stimulation auch bei Ratten gekoppelt ist an einen T-Kanal-Kalziumeinstrom.

Hypothermie (31°C) schwächt die positiv chronotrope Wirkung der α_1 -Stimulation trotz sehr niedriger Ausgangsfrequenzen (um 200 Schläge/min). Es kommt zwar zu einem Anstieg der Herzfrequenz; dieser beträgt aber nur 7% im Vergleich zu 21% bei 37°C. Auch Kalzium wirkt bei Hypothermie weniger stark positiv chronotrop (Seifen et al. 1986), deshalb könnte eine veränderte Kalziumleitfähigkeit des Sinusknotens in Hypothermie als Ursache der geschwächten chronotropen Frequenzwirkung in Frage kommen.

Insgesamt betrachtet hat Methoxamin bei der üblichen Spontanfrequenz der Rattenherzen keine chronotrope Wirkung. Bei erniedrigter Frequenz jedoch ist ein Schlagfrequenzsteigernder Effekt zu beobachten, der jedoch begrenzt ist und nicht die Spontanfrequenz überschreitet. In milder Hypothermie (31°C) ist dieser positiv chronotrope Effekt abgeschwächt. Ursache der positiv chronotropen Wirkung ist wahrscheinlich ein Einstrom von Kalzium durch T-Kanäle.

Koronarfluß

Methoxamin ist als α_1 -Agonist ein potenter Konstriktor peripherer Gefäße. Umso mehr verwundert es, daß der Koronarfluß in den vorliegenden Versuchen über lange Strecken nahezu unverändert bleibt und erst bei hohen Methoxaminkonzentrationen langsam abnimmt. Die wahrscheinlichste Ursache dafür ist eine metabolische Vasodilatation, welche die vasokonstringierende der α_1 -Stimulation kompensiert. Bei zunehmender Inotropie und dadurch erhöhtem Energiebedarf steigt der Sauerstoffverbrauch an und die Sauerstoffausschöpfung nimmt zu, es kommt zu einem Abfall des koronarvenösen Sauerstoffpartialdruckes (Abfall des PO_2 : -45% in der Versuchsgruppe bei 31°C und in der Versuchsgruppe mit 8,75 mmol/l Ca^{2+} , -52 % in der Versuchsgruppe mit 1,25 mmol/l Ca^{2+} , -55% in den Versuchsgruppen mit 2,5 und 10 mmol/l Ca^{2+}). Dies führt zur metabolischen Vasodilatation, die zunächst gegenüber der α_1 -vermittelten Vasokonstriktion überwiegt. Ab der Methoxaminkonzentration jedoch, bei der die unspezifische kardiodepressive Wirkung auftritt (s.o.), sinkt mit $LVdP/dt_{max}$ der Energiebedarf (sichtbar am sinkenden Sauerstoffverbrauch). In der Folge kommt es zu einer Abnahme der kompensatorisch wirkenden metabolischen Vasodilatation, so daß die konstringierende α_1 -Wirkung die Überhand gewinnt und der Koronarfluß abnimmt.

Als Hinweis für die metabolische Dilatation ist in der Versuchsgruppe mit 1.25 mmol/l Ca^{2+} sogar ein nicht signifikanter Anstieg des Koronarflusses zu beobachten (um 10%), wahrscheinlich weil Methoxamin in dieser Gruppe zur größten Verstärkung der Kontraktionskraft führt und hier auch den größten Sauerstoffverbrauch zeigt. In Versuchen mit Methoxamingabe im Bolus zeigt sich initial ein Abfall des Koronarflusses, sobald jedoch der positiv inotrope Effekt einsetzt und der Sauerstoffverbrauch ansteigt, nimmt der Koronarfluß wieder zu (siehe Abb. 48). Die α_1 -koronarkonstriktorische Wirkung scheint interessanterweise von den Energiebedürfnissen des Herzens überspielt zu werden, was physiologisch sehr sinnvoll ist.

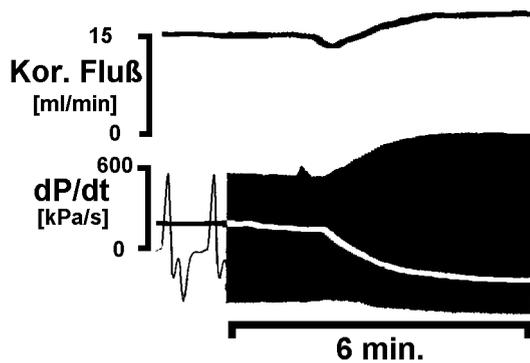


Abb. 48: Originalregistrierung der Wirkung einer Methoxamin-Einzeldosis auf Koronarfluß, LVdP/dt und koronarvenösen PO₂.

PO₂ = weiße Linie. Man beachte den initialen Abfall des Koronarflusses, der dann jedoch mit Sinken des koronarvenösen PO₂ ansteigt.

Zu einer ähnlichen Schlußfolgerung kamen Youngson et al. 1985, welche die Wechselwirkung von α_1 - und β_1 -Rezeptor-Stimulation bezüglich inotroper Reaktion und metabolischer Koronardilatation untersuchten. Sie beobachteten, daß die durch Stimulation kardialer β_1 -Rezeptoren mit u.a. Noradrenalin hervorgerufene positiv inotrope Reaktion und die begleitende metabolische Koronardilatation modulierbar waren durch gleichzeitige Stimulation von α_1 -Rezeptoren mit Methoxamin: Es kam zu einer Abnahme des positiv inotropen Effektes und zu einer Zunahme der metabolischen Vasodilatation bei Applikation von Methoxamin + Noradrenalin im Vergleich zur alleinigen Noradrenalin-Wirkung. Youngson et al. schrieben deshalb den α_1 -Rezeptoren eine Schutzfunktion zu, die das Herz vor ischämischen Läsionen bewahrt, indem die α_1 -Stimulation die positiv inotrope Antwort der β_1 -Stimulation limitiert und gleichzeitig die Blutversorgung maximiert und so die Sauerstoffversorgung optimiert.

Auffällig ist in den vorliegenden Ergebnissen der nahezu parallele Verlauf der Koronarflußkurven sowohl mit als auch ohne α_1 -Blockade durch Prazosin. In der Versuchsgruppe mit Prazosin ist der fallende Koronarfluß einer unspezifischen, d.h. nicht α_1 -vermittelten Wirkung des Methoxamin zuzuschreiben; in der Versuchsgruppe ohne Prazosin ist der Koronarfluß, wie erläutert, Resultante dreier Effekte: der vasokonstringierenden Wirkung, einer metabolischen Vasodilatation und schließlich der unspezifischen Wirkung. Insbesondere der initiale Abfall bei niedriger Methoxamindosis, der sowohl mit als auch ohne

α_1 -Blockade auftritt, ist bemerkenswert. Seine Ursache ist am ehesten der unspezifischen Methoxaminwirkung zuzuschreiben, da nur diese in beiden Gruppen vorhanden ist.

Einzeldosis- und Auswaschverhalten

Methoxamin als Bolus ($2 \cdot 10^{-5}$ mol/l) verabreicht führt über die Zeit gesehen zu einem Anstieg von $LVdP/dt_{max}$ in drei Phasen: Einem kurzen initialen Anstieg (Phase 1) folgt ein vorübergehender Abfall (Phase 2) bevor sich der dauerhafte Inotropieanstieg entwickelt (Phase 3, siehe Abb. 49). Beim Auswaschen (Abb. 50/51 rechte Seite) mit methoxaminfreier Krebs-Henseleit-Lösung kommt es nach ca. 7 min. zu einer Rückbildung auf Kontrollwerte (der hier sichtbare Inotropieabfall ist dadurch bedingt, daß mit 1,25 mmol/l Ca^{2+} -haltiger Krebs-Henseleit-Lösung ausgewaschen wurde, während zuvor 2,5 mmol/l Ca^{2+} enthalten waren). Bei wiederholter Bolusgabe ist die Methoxaminwirkung nahezu unverändert, es kommt wiederum zu einem Anstieg der Inotropie mit typischem triphasischen Verlauf der $LVdP/dt_{max}$ -Kurve.

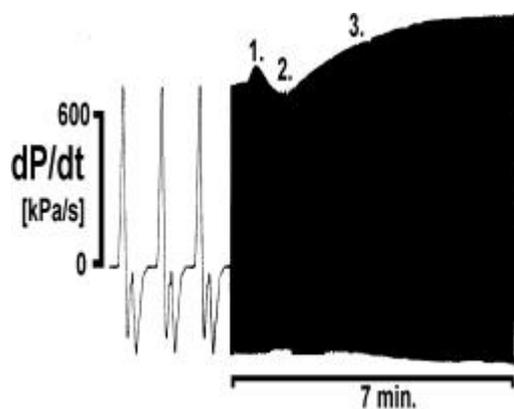


Abb. 49: Originalregistrierung nach Methoxamin-Bolusgabe.

Wird Methoxamin als Bolus verabreicht ($2 \cdot 10^{-5}$ mol/l), so teilt sich beim Rattenherz der zeitliche Verlauf von $LVdP/dt_{max}$ in 3 Phasen (1./2./3. in der Abb.).

Der triphasische Inotropieanstieg scheint bei Rattenherzen ein typisches Merkmal der α_1 -Stimulation zu sein. Auch Otani et al. (1990, Papillarmuskeln von Ratten), Tohse et al (1987, Papillarmuskeln von Ratten), Osnes et al. (1978, isoliertes Ganzherz von Ratten) beschreiben einen triphasischen zeitlichen Verlauf der inotropen Antwort auf α_1 -Stimulation. Die Ursache

ist ungeklärt. Es gibt Hinweise, daß Inositoltrisphosphat an dem kurzzeitigen initialen Anstieg beteiligt ist. So konnte man nachweisen, daß 15 (Hanem et al. 1996, Ganzherz der Ratte)-30 sec. (Kohl et al. 1990, Vorhofpräparate von Rattenherzen) nach α_1 -Stimulation zu einem kurzzeitigen Anstieg des Inositoltrisphosphat - Gehaltes kommt, zu dem Zeitpunkt, wo auch der kurzzeitige initiale Anstieg der Kontraktilität sichtbar ist (in der vorliegenden Arbeit tritt der initiale Inotropieanstieg nach ca. 90 sec. auf, wobei der Weg vom Vorratsgefäß zum Herz etwa 1 Minute dauert). Durch Inositoltrisphosphat könnte es zu einer Freisetzung von Kalzium aus dem sarkoplasmatischem Retikulum kommen und so zu einem Anstieg der Inotropie (Phase 1), der mit Abfallen der Inositoltrisphosphat - Konzentration wieder zurückgeht (Phase 2). Der darauf folgende dauerhafte Inotropieanstieg (Phase 3) ist auf die besprochenen inotropen Mechanismen der α_1 -Stimulation zurückzuführen.

Die Abbildungen 50, 51, 52 zeigen jeweils oben den LVP und unten $LVdP/dt_{max}$ am gleichen Herzen bei dreimaliger Bolusgabe, weiße Linie = coronarvenöser O_2 -Partialdruck.

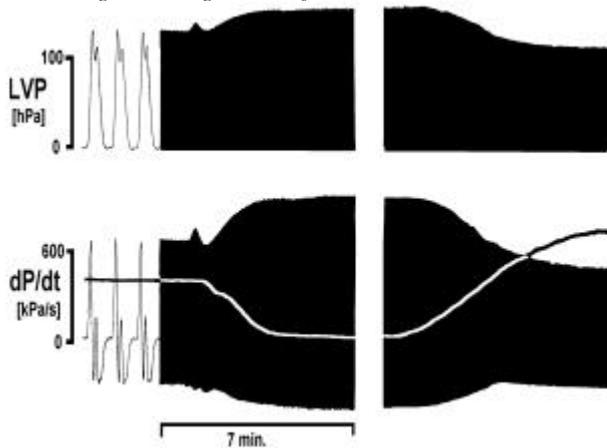


Abb. 50: Links Wirkung des 1. Methoxamin-Bolus, rechts Auswaschverhalten.

Man sieht den triphasischen $LVdP/dt_{max}$ Verlauf. Beim Auswaschen zeigt sich kein Adaptationseffekt (Erklärung s. Text).

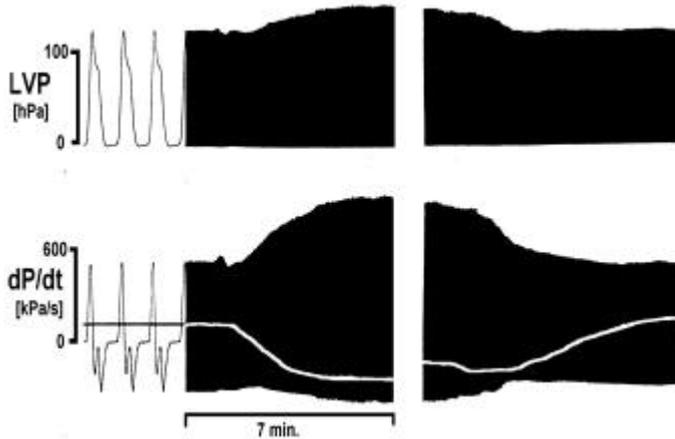


Abb. 51: Zweite Bolusdosis Methoxamin (links), Auswaschen (rechts)

Es zeigt sich eine nahezu unveränderte Wirksamkeit (linke Hälfte). Beim Auswaschen (rechte Hälfte) ist kein Adaptationseffekt (s. Text) zu sehen.

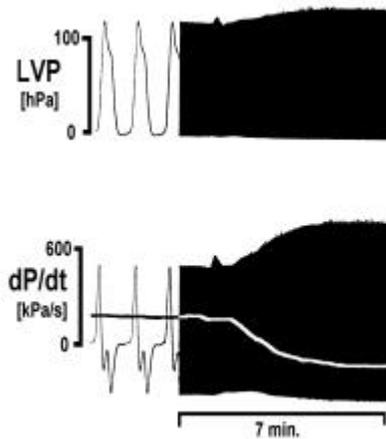


Abb. 52: Wirkung des 3. Bolus.

Auch nach zweimaligem Auswaschen ist die Methoxaminwirkung noch voll vorhanden.

Beim Auswaschen findet sich kein Adaptationseffekt (Abb. 50/51), wie er z.B. bei Isoprenalin beobachtet werden kann. Der Adaptionseffekt ist ein Wiederanstieg von $LVdP/dt_{max}$ nach initialem Abfall durch das Auswaschen; dieser adaptive Wiederanstieg dauert bei Isoprenalin 15 Minuten (Schmidt 2000). Das ein solcher Effekt beim Auswaschen des Methoxamin nicht zu sehen ist, kann daran liegen, daß Methoxamin im Vergleich zu Isoprenalin nur gering positiv inotrop wirkt (die maximale Steigerung von $LVdP/dt_{max}$ unter Methoxamin beträgt etwa 24%, Isoprenalin hingegen bewirkt nach Ergebnissen der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Schmidt (nicht veröffentlicht) bei vergleichbaren Versuchsbedingungen einen Anstieg von $LVdP/dt_{max}$ um ca. 140%) und das Isoprenalin schneller auswaschbar ist, so daß Ausmaß und

Zeit des Wechsels vom inotropen Status mit und ohne Methoxamin nicht so ausgeprägt sind wie bei Isoprenalin.