

4. Diskussion

4.1 Clonidin-Wirkung auf isoliert arbeitende Meerschweinchenherzen

4.1.1 Wirkung bei 2,5 mmol/l Kalzium

Clonidin führt bei den Untersuchungen an isoliert arbeitenden Meerschweinchenherzen zur Steigerung der Kontraktilität (Inotropie) und Relaxation (Lusitropie) und zur Abnahme der Herzfrequenz. Als Maß für die Inotropie dient die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit unter Berücksichtigung des linksventrikulären enddiastolischen Drucks, für die Lusitropie die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit und die Relaxationszeitkonstante τ .

Eine Veränderung der myokardialen Kontraktilität kann bei Konstanthaltung der äußeren Versuchsbedingungen zum einen durch drei physiologische Mechanismen ausgelöst werden: Eine gesteigerte sympathische Erregung, Veränderungen der Druck-Volumen-Beziehung (Frank-Starling-Mechanismus) und Veränderungen der Herzfrequenz-Kontraktilitäts-Beziehung (Bowditch-Effekt, Bowditch 1871). Zum anderen können Substanzen direkt die Inotropie beeinflussen, z.B. Digitalis oder Kalzium-Antagonisten.

In der Versuchsanordnung der vorliegenden Arbeit handelt es sich um isolierte und damit denervierte Herzen, sodass eine Einflussnahme des sympathischen Nervensystems ausgeschlossen ist. Eine Freisetzung von endogenem Noradrenalin aus kardialen Speichern (Forth et al. 1996) wäre denkbar, müsste aber auch eine Frequenzsteigerung zur Folge haben. Positive Chronotropie wird jedoch nicht beobachtet (Abb. 3.1.5). Zudem hemmt Clonidin die Freisetzung präsynaptischen Noradrenalins (Benfey 1980), wie Abbildung 4.3 zeigt.

Der enddiastolische Druck, ein Indikator für das enddiastolische Volumen, verändert sich während des Inotropie-Anstiegs nicht signifikant. Der systolische Druck wird mittels regelbarem Widerstand konstant gehalten. Die Zunahme der Inotropie durch Veränderungen im Frank-Starling-Diagramm ist also ebenfalls ausgeschlossen. Auch die Herzfrequenz-abhängige Steigerung der Kontraktilität (Bowditch-Effekt) kann ausgeschlossen werden, da die Herzfrequenz signifikant fällt und nicht steigt (Abb. 3.1.5). Die positiv inotrope Wirkung des Clonidin wird über den α_1 -Rezeptor vermittelt. Der aktivierte Rezeptor löst eine Signalkaskade aus, die schließlich für eine intrazellulär erhöhte Kalzium-Konzentration sorgt (Abb. 4.2). Dadurch steigt die Kontraktilität der Muskelzelle.

Eine negative Wirkung des Clonidin auf die Chronotropie wurde auch von Primm et al. (1980) an Hunden gefunden. Die Autoren führen diesen Clonidin-Effekt auf eine Inhibition der Noradrenalin-Freisetzung aus Speichervesikeln in Sinusknotenzellen zurück (s. auch Abb. 4.1).

Der Wiederabfall der Kontraktilität ab einer Konzentration von $1,4 \cdot 10^{-5}$ mol/l Clonidin beruht entweder auf einer negativen Eigenwirkung des Clonidin bei höheren Konzentrationen oder auf einer Kalzium-Überladung des Sarkoplasmas. Die Frage wird in Kap. 4.1.2 behandelt.

Die Relaxationsgeschwindigkeit nimmt unter Clonidin zu, erkennbar durch die gegensinnig verlaufenden Parameter maximale Druckabfallgeschwindigkeit ($LV dp/dt_{min}$) und Relaxationszeitkonstante (τ). Nimmt die Kontraktilität bei hohen Clonidin-Konzentrationen wieder ab, so relaxiert das Herz auch wieder langsamer. In der Literatur sind keine Angaben zur relaxierenden Wirkung von Clonidin zu finden.

Der initiale Abfall des Koronarflusses kommt durch α -Rezeptoren-vermittelte Vasokonstriktion des Clonidin zustande. Später weicht diese einer Steigerung des Koronarflusses, der parallel zur Kontraktilität und dem Sauerstoffverbrauch ansteigt und bei hohen Konzentrationen auch parallel wieder abfällt. Durch die vermehrte Herzarbeit steigt der myokardiale Sauerstoffverbrauch und konsekutiv der Koronarfluss. Nakane et al. berichten 1986 ebenso von der Beobachtung, dass Clonidin in niedrigen Dosierungen eine Vasokonstriktion und bei hohen Dosierungen eine Vasodilatation verursacht. Sie gehen davon aus, dass beide Effekte eine direkte Wirkung des Clonidin auf H_2 -Rezeptoren ist (s. Kap. 4.4). Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass bei erhöhtem Sauerstoffverbrauch (Abb. 3.1.7) vermehrt anfallende Metaboliten per se eine Koronardilatation bewirken.

Die Konstellation aller erwähnten Parameter deutet darauf hin, dass Clonidin die Herzleistung verbessert.

4.1.2 Wirkung bei 1,25 und 10 mmol/l Kalzium

Sind die Myokardzellen vollständig mit Kalzium aufgesättigt durch Erhöhung der Kalzium-Konzentration im Perfusat auf 10 mmol/l (Schmidt 2001), ergibt sich qualitativ kein Unterschied in der Reaktion der Tierherzen auf Clonidin. Auch wenn die maximale Steigerung der Inotropie signifikant ($p < 0,01$) geringer ist als bei 2,5 mmol/l Kalzium, so ist das Niveau der erreichten Maxima doch etwa gleich (Abb. 3.1.1). Auch das Maximum von $LV dp/dt_{max}$ bei 1,25 mmol/l befindet sich etwa auf gleichem Niveau, doch ist der Ausgangswert der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit niedriger, was sich durch die intrazellulär geringere Kalzium-Konzentration erklärt. Entsprechend ist der Inotropie-Ausgangswert bei 10 mmol/l Kalzium höher als bei 2,5 mmol/l. Die Ergebnisse zeigen, dass Clonidin - unabhängig von der intrazellulären Kalzium-Konzentration - die Inotropie der Meerschweinchenherzen bis zu einem bestimmten Punkt steigern kann. Die unterschiedliche absolute Inotropiesteigerung ist somit vor allem durch das jeweils unterschiedliche Ausgangsniveau bedingt.

Bei 10 mmol/l Kalzium im Perfusat ist die Zelle maximal mit Kalzium aufgesättigt. Eine weitere Erhöhung der Kalzium-Konzentration würde zu einem Wiederabfall von $LV dp/dt_{max}$ führen (Schmidt 2001). Clonidin wirkt positiv inotrop über eine Erhöhung der intrazellulären Kalzium-Konzentration. Es stellt sich nun die Frage, warum Clonidin dann die Inotropie bei 10 mmol/l Kalzium weiter steigern kann. Diese positiv inotrope Wirkung wird möglicherweise durch eine Erhöhung der Kalzium-Affinität des Troponin C vermittelt. Dadurch steigt die Kalzium-Sensitivität des kontraktilen Apparates. Dieser wäre somit empfindlicher gegenüber Kalzium und stärker in der Kontraktion bei dennoch gleich hoher Kalzium-Konzentration. In der Literatur finden sich keine Hinweise zu dem Thema.

Durch das kleine Molekulargewicht von Clonidin (266,6 g/mol) gelangt es ohne Schwierigkeiten nach intrazellulär, was für den o.a. Mechanismus Voraussetzung ist.

Die Differenz zwischen Ausgangswert und Maximum der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit ist umso kleiner, je höher die Kalzium-Konzentration im Perfusat ist. Das bedeutet, dass zusätzliches intrazelluläres Kalzium in Myozyten zwar die Kontraktilität fördert, jedoch nicht mehr positiv inotrop wirkt, wenn es bereits in zu hoher Dosis vorhanden ist. Auch die Linksverschiebung der Inotropie-Kurven bei zunehmender Kalzium-Konzentration spricht zwar für ein zeitlich schnelleres Erreichen des Maximums, aber auch für eine frühere Erschöpfung und Wiederabnahme der Inotropie. Zusammenfassend deutet alles darauf hin, dass der Abfall der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit durch eine Clonidin-induzierte Kalzium-Überladung verursacht wird und nicht durch eine negative Clonidin-Eigenwirkung. Dafür spricht auch folgender Befund: Clonidin entfaltet bei Rattenherzen keine signifikante positiv inotrope Wirkung, aber auch keine negative Eigenwirkung, unabhängig von der Konzentration (Abb. 3.9.1). Das bestätigt die Annahme, dass bei Meerschweinchenherzen auch bei höheren Clonidin-Konzentrationen keine negative Eigenwirkung existiert.

Bei beiden Relaxationsparametern (Abb. 3.1.3 und 3.1.4) fällt auf, dass bei 1,25 mmol/l Kalzium die Relaxationsgeschwindigkeit mit steigender Clonidin-Konzentration nicht wie bei 2,5 und 10 mmol/l steigt, sondern abnimmt. Das ist ein qualitativer Unterschied, der bei allen anderen Parametern nicht beobachtet wird. Die niedrige Kalzium-Konzentration verzögert also nicht nur das Erreichen des Inotropie-Maximums, d.h. führt zu einer Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungskurve, sondern dämpft auch die positiv lusitrope Wirkung von Clonidin.

Unabhängig von der Kalzium-Konzentration sinkt die Herzfrequenz signifikant um 10-20 Schläge/min bei steigender Clonidin-Konzentration. Bei Meerschweinchen ist ein positiver Bowditch-Effekt bekannt, d.h. mit steigender Inotropie steigt auch die Herzfrequenz bzw. umgekehrt. Danach müsste als Folge der unter Clonidin gesenkten Herzfrequenz auch die Inotropie gedämpft werden. In der vorliegenden Untersuchung aber steigt die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit signifikant an. Da der Frequenzabfall nur bis zu ca. 20 Schläge/min beträgt, ist der dadurch verursachte Bowditch-Effekt äußerst gering und kann vernachlässigt werden. Ein deutlich negativer Einfluss auf die Kontraktilität wäre erst ab einem Abfall um 40-50 Schläge/min zu erwarten (Befund der eigenen Arbeitsgruppe).

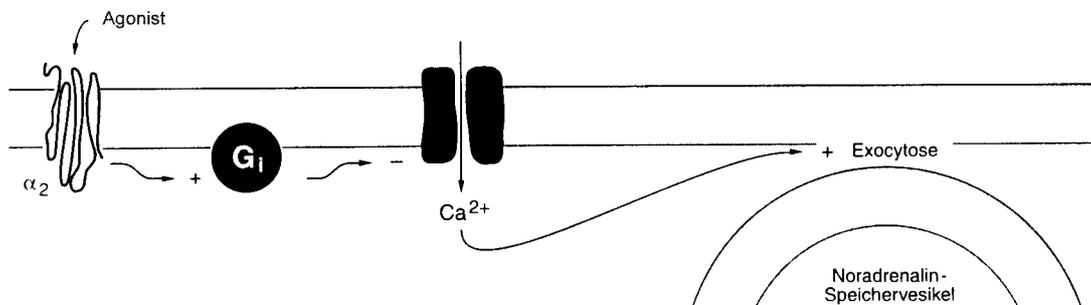
Auch bei 1,25 und 10 mmol/l Kalzium verhält sich der Koronarfluss unter Clonidin-Gabe wie bei 2,5 mmol/l Kalzium (Abb. 3.1.6). Allerdings wirkt sich eine Erhöhung oder Erniedrigung der Kalzium-Konzentration negativ aus auf die Fähigkeit zur Koronardilatation bei zunehmender Clonidingabe. Bei 2,5 mmol/l Kalzium erreicht der Koronarfluss den höchsten Wert durch die Clonidin-Applikation.

Wie bei der maximalen Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit zeigt auch der Sauerstoffverbrauch eine Linksverschiebung bei zunehmender Kalzium-Konzentration. Das erreichte Maximum des Sauerstoffverbrauchs ist bei den drei verschiedenen Kalzium-Konzentrationen annähernd gleich hoch. Das entspricht dem Befund der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit, mit der der Sauerstoffverbrauch eng korreliert.

Der Anstieg des Sauerstoffverbrauchs (Abb. 3.1.7) geht in den vorliegenden Versuchen mit einem Abfall des Wirkungsgrades (Abb. 3.1.8) einher. Generell fällt der Wirkungsgrad ab bei einer pharmakologisch bedingten Steigerung des Sauerstoffverbrauchs. Dieser Befund ist also keine Besonderheit bei Clonidin, sondern findet sich bei allen positiv inotropen Substanzen.

Wie Abbildung 4.1 veranschaulicht, aktiviert ein stimulierter α_2 -Rezeptor ein G_i -Protein, welches die Offenwahrscheinlichkeit spannungsabhängiger Kalzium-Kanäle in der Zellmembran hemmt. Clonidin sorgt also nicht auf diesem Wege für eine intrazelluläre Steigerung der Kalzium-Konzentration. Auch wird das sarkoplasmatische Retikulum nicht auf diesem Wege durch Kalzium-Einstrom zur Kalzium-Ausschüttung getriggert. Hier muss ein anderer Mechanismus vorliegen.

Abb. 4.1: Vom α_2 -Adrenozeptor zur Zellantwort (modifiziert nach Forth et al. 1996)

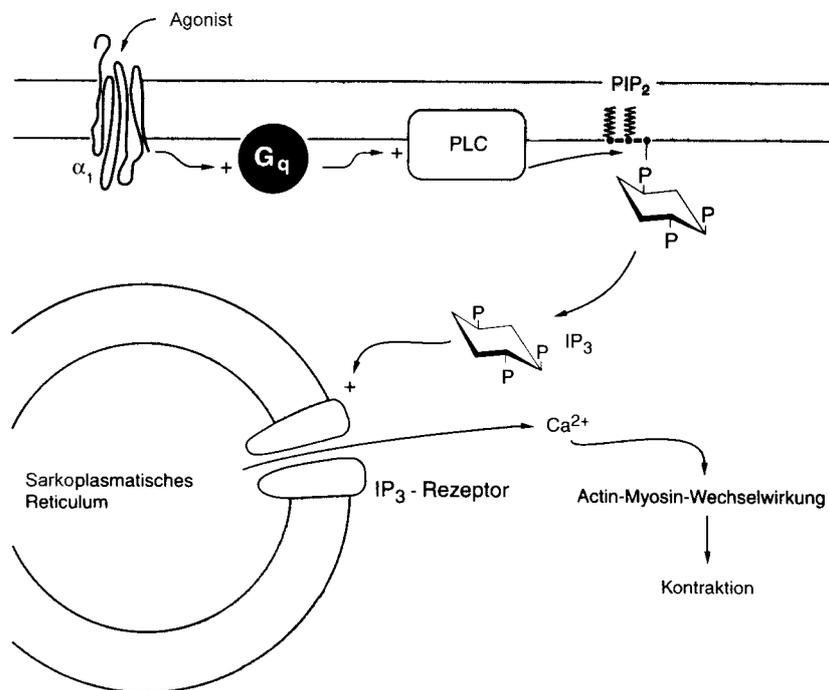


Benfey berichtet 1990, dass in Herzmuskelzellen von Katzen, Kaninchen, Ratten, Meerschweinchen und Menschen keine α_2 -Rezeptoren existieren, wohl aber α_1 -Rezeptoren, deren Untergruppe α_{1b} eine hohe Affinität zu Clonidin hat. Die Stimulierung dieser Rezeptoren führt konzentrationsabhängig zu einer erhöhten Kalzium-Sensitivität der Myofibrillen (Endoh et al. 1988), was den Anstieg der Kontraktilität erklärt. Die positiv inotrope Wirkung des Clonidin am Myokard ist demnach nicht die Folge einer Stimulation von α_2 -Adrenozeptoren, sondern von α_{1b} -Adrenozeptoren.

Eimer studierte in der eigenen Arbeitsgruppe die Wirkung des α_1 -Agonisten Methoxamin, der bei Rattenherzen eine positiv inotrope Wirkung zeigt, die aber bei Clonidin deutlich schwächer ausgeprägt ist (s. Abb. 3.9.1). Beim Meerschweinchen findet sich jedoch kein positiv inotroper Effekt nach α_1 -Stimulation mit Methoxamin. Es zeigt sich eher eine kardiodepressive Wirkung. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass Methoxamin nicht auf den α_{1b} -Rezeptor wie Clonidin wirkt, sondern auf einen anderen Rezeptor aus der Gruppe α_1 .

Abbildung 4.2 stellt die Signaltransduktion nach α_1 -Rezeptorstimulation dar: Stimulierte α_1 -Rezeptoren aktivieren ein G_q -Protein, welches eine Phospholipase C (PLC) aktiviert. Die PLC hydrolysiert Phosphatidylinosit-4,5-bisphosphat (PIP_2) zu Diacylglycerin (nicht gezeigt) und dem second messenger Inosit-1,4,5-trisphosphat (IP_3). IP_3 reagiert mit einem Kalzium-Kanal des sarkoplasmatischen Retikulums, dem sog. IP_3 -Rezeptor, und setzt dadurch aus dem sarkoplasmatischen Retikulum Kalzium ins Zytoplasma frei. Die nun höhere zytoplasmatische Kalzium-Konzentration ermöglicht die stärkere Wechselwirkung von Actin mit Myosin und damit die Verstärkung der Kontraktion.

Abb. 4.2: Vom α_1 -Adrenozeptor zur Kontraktion der Herzmuskelzelle (modifiziert nach Forth et al. 1996)



4.2 Wirkung von Clonidin und Histamin auf isoliert arbeitende Meerschweinchenherzen bei 37 °C und 31 °C im Vergleich

Bei Experimenten der eigenen Arbeitsgruppe wurde die Wirkung von Histamin auf isoliert arbeitende Meerschweinchenherzen untersucht (Uhlmann 1997). Cook et al. berichten 1985 über Veränderungen der Reaktion glatter Muskulatur von Ileum und Kolon des Meerschweinchens bei Histamin-Gabe in Abhängigkeit von der Temperatur: Unter Hypothermie reagiert das Ileum nicht signifikant weniger auf Histamin als bei 37 °C. Beim Kolon dagegen vermindert Hypothermie den Histamin-Effekt. Reinhardt et al. fanden 1979 bei Hypothermie eine Abschwächung der Histamin-Reaktion von Mesenterialarterien des Kaninchens.

Diese Befunde führten in der vorliegenden Arbeit zur Untersuchung der Clonidin-Wirkung bei 31 °C und zusätzlich zu einem Vergleich zwischen Clonidin und Histamin. Es galt zu klären, ob Histamin auch bei Hypothermie schwächer am Herzen wirkt und wie der Clonidin-Effekt bei Hypothermie aussieht, da Clonidin auch über H₂-Rezeptoren wirken soll. Zusätzlich interessierte die lusitrope Wirkung von Clonidin bei Hypothermie, da unter diesen Bedingungen eine deutlich verlangsamte Basisrelaxation besteht und somit zu vermuten war, dass die lusitrope Clonidin-Wirkung verstärkt ist. Eine solche verstärkte Wirkung auf die linksventrikuläre Relaxation bei 31 °C wurde in der Arbeitsgruppe z.B. bei Insulin und von Eimer bei dem α_1 -Agonisten Methoxamin gesehen.

Eine Absenkung der Temperatur von 37 °C auf 31 °C hat keinen Einfluss auf die positiv inotrope Wirkung des Clonidin, wie Abbildung 3.2.1 zeigt. Der Kurvenverlauf der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit bei 31 °C ist aufgrund der niedrigeren Temperatur abgesenkt, aber nahezu parallel zu dem bei 37 °C. Es besteht kein qualitativer Unterschied.

Die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (Abb. 3.2.3) zeigt ebenso ein ähnliches, wenn auch nicht paralleles Profil. Durch die niedrige Temperatur auf einem niedrigeren Ausgangsniveau als bei 37 °C steigt sie mit steigender Clonidin-Konzentration signifikant an. Analog dazu sinkt die Relaxationszeitkonstante (Abb. 3.2.4) signifikant bei 37 °C um 53 %, bei 31 °C um 65 %. Auch bei qualitativ gleicher Wirkung ist das ein quantitativer Unterschied. Dabei darf aber der fast doppelt so hohe Ausgangswert bei 31 °C nicht übersehen werden, der eine starke Senkung der Relaxationszeitkonstante erst ermöglicht.

Auch Herzfrequenz, Koronarfluss, Sauerstoffverbrauch und Wirkungsgrad verhalten sich nahezu parallel zu den Bedingungen bei 37 °C. Daraus folgt, dass die verminderte Temperatur keinerlei Einfluss auf die Wirkung des Clonidin per se hat. Die Parallelverschiebung bei verschiedenen Temperaturen ist aufgrund des unterschiedlich starken Stoffwechsels der Kardiomyozyten zu erwarten.

Die Versuchsreihe mit kumulativer Applikation von Histamin bei Hypothermie (31 °C) bei Meerschweinchen zeigt ähnliche Verhältnisse wie bei Clonidin: Die Abbildungen 3.3.1 - 3.3.5 stellen dar, dass eine Temperatursenkung von 37 °C auf 31 °C kaum einen qualitativen Einfluss auf die Histamin-Wirkung hat. Die am Kolon sowie an Mesenterialarterien gefundene Abschwächung der Histamin-Wirkung durch Hypothermie ist beim Meerschweinchenherzen nicht nachzuweisen.

In Kap. 3.4 nun werden die prozentualen Wirkungen von Clonidin und Histamin sowohl bei 37 °C als auch bei 31 °C miteinander verglichen. Clonidin wirkt bei physiologischer Temperatur (37 °C) prozentual stärker positiv inotrop als Histamin (Abb. 3.4.1), obwohl Histamin die Frequenz steigert und nach dem Bowditch-Effekt dadurch die Inotropie positiv mitbeeinflusst wird. Clonidin dagegen senkt die Frequenz und wirkt dennoch stärker als Histamin. Die Frequenzsenkung ist unabhängig von der Temperatur (Abb. 3.4.3).

Während bei Clonidin die Wirkung auf $LV dp/dt_{max}$ bei 37 °C und 31 °C prozentual nahezu gleich stark ist, fällt bei Histamin auf, dass es bei niedrigerer Temperatur eine größere prozentuale Wirkung auf die maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit entfaltet als bei 37 °C (Abb. 3.4.1). Eine mögliche Erklärung für das Phänomen ist, dass die Einwirkung niedriger Temperaturen auf Muskelgewebe eine Umwandlung der H_1 -Rezeptoren in H_2 -Rezeptoren induziert (Cook et al. 1985). H_2 -Rezeptoren vermitteln eine positiv inotrope Wirkung, H_1 -Rezeptoren dagegen eine negative (Wilson et al. 1981). Demnach stimuliert Histamin bei abnehmender Temperatur zunehmend H_2 - statt H_1 -Rezeptoren und wirkt dann zunehmend positiv inotrop. Bei 31 °C ist die inotrope Wirkung von Clonidin und Histamin dann etwa gleich stark.

Vor dem Hintergrund der Histaminrezeptor-Umwandlung bei Hypothermie lässt sich eine weitere temperaturabhängige Veränderung in der Reaktion der Tierherzen auf Histamin erklären: Der starke Zuwachs der lusitropen Wirkung ($LV dp/dt_{min}$) von 61 % bei Hypothermie (Abb. 3.4.2) könnte der übliche Befund bei Einwirkung einer positiv inotropen Substanz sein. Jedoch ist dafür der Unterschied zur Zunahme von $LV dp/dt_{min}$ bei 37 °C (13 %) zu groß. Eine mögliche Erklärung liefern Eckel et al. 1982: Die lusitrope Wirkung von Histamin wird ebenfalls H_2 -vermittelt.

Wenn Clonidin über H_2 -Rezeptoren wirken soll, sei es direkt oder indirekt (auf dem Wege der Freisetzung von Histamin), muss es in etwa gleiche Wirkstärke wie Histamin entfalten. Bei der maximalen Druckerhöhungsgeschwindigkeit (Abb. 3.4.1) sehen wir bei 37 °C nur einen geringen Unterschied in der Wirkung von Clonidin im Vergleich zu Histamin, bei der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit (Abb. 3.4.2) aber einen deutlichen Unterschied. Dieser Unterschied verschwindet bei 31 °C.

Die Relaxation der Herzmuskulatur ist im Wesentlichen abhängig von der Leistung der sarkoplasmatischen Kalzium-ATPase. Je schneller sie arbeitet, desto schneller gelangt das Kalzium vom Sarkoplasma zurück ins sarkoplasmatische Retikulum und desto schneller kann die Muskelzelle relaxieren. Da Clonidin durch sein geringes Molekulargewicht (266 g/mol) nach intrazellulär eindringen kann, wirkt es möglicherweise auch direkt auf einen Rezeptor oder ein Enzym am sarkoplasmatischen Retikulum. Dort könnte der Unterschied in der Wirkungsweise von Clonidin und Histamin begründet sein. Eventuell wirkt Clonidin an der Stelle, Histamin aber nicht. Die Struktur der beiden Substanzen könnte ähnlich genug sein, um auf H_2 -Rezeptoren zu wirken, aber unterschiedlich genug sein, um nicht gleichermaßen die sarkoplasmatische Kalzium-ATPase zu aktivieren.

Wird die Kalzium-ATPase aber gehemmt (hier durch Hypothermie), so könnte es sein, dass Clonidin nicht mehr die Wirkung auf das Enzym entfalten kann wie bei 37 °C und dass es nun nur noch in gleichem Maße wie Histamin auf die ATPase wirkt. Dann wäre der deutliche Unterschied bei 37 °C von Clonidin und Histamin in der Wirkung auf die Relaxation bei 31 °C nicht gegeben, so wie es hier beobachtet wurde (Abb. 3.4.2).

In der Wirkung auf die Herzfrequenz (Abb. 3.4.3) unterscheiden sich beide Substanzen qualitativ: Clonidin senkt, Histamin steigert die Frequenz. Dieser qualitative Unterschied ist umso erstaunlicher, weil durch den positiven Bowditch-Effekt der Vergleich der maximalen Druckerhöhungsgeschwindigkeit umgekehrt ausfallen müsste: Weil Histamin die Herzfrequenz deutlich steigert, Clonidin sie aber senkt, müsste Histamin nach dem Bowditch-Effekt auch stärker positiv inotrop wirken als Clonidin. Beim Koronarfluss unterscheiden sich die beiden Stoffe kaum.

Das Verhalten des Sauerstoffverbrauchs (Abb. 3.4.5) bedarf keiner besonderen Interpretation. Sowohl bei Clonidin als auch bei Histamin, sowohl bei 37 °C als auch bei 31 °C korreliert er mit der maximalen Druckerhöhungsgeschwindigkeit.

4.3 Wirkung von Clonidin-Einzeldosen

Diese Versuchsgruppe zeigt, dass wiederholte submaximal wirksame Einzeldosen Clonidin bei demselben Herzen eher eine größere maximale Druckerhöhungsgeschwindigkeit zur Folge haben als bei den vorangehenden Einzeldosen (Abb. 3.5.1). Der inotrope Effekt des Clonidin aufs Herz ist mit zunehmender Einzeldosis-Zahl also nicht etwa schwächer, sondern eher stärker. Die Steigerung ist zwar nicht signifikant, aber dennoch deutlich und wiederholt nachvollziehbar.

Das widerspricht der Annahme, Clonidin wirke indirekt auf H_2 -Rezeptoren, indem es endogene Histamin-Speicher, beispielsweise in Mastzellen, entleere (s. Kap. 4.4 und Tab. 4.1). Die Speicher wären mit zunehmender Einzeldosis-Zahl immer ärmer an Histamin. Eine Inotropiezunahme wäre dann nicht möglich.

Die Aufstellung einer kumulativen Dosis-Wirkungs-Kurve von Clonidin wie in Kap. 3.1 ist möglich, da die Clonidin-Wirkung nach einer Einzeldosis nur sehr langsam nachlässt. Das veranschaulicht gut die dritte Einzeldosis in Abb. 3.5.1, nach der die Clonidin-Wirkung fünf, sieben und neun Minuten nach Substanzgabe gemessen wurde. Untersuchungen der eigenen Arbeitsgruppe ergaben, dass die inotrope Wirkung einer Bolusinjektion von Isoprenalin oder Noradrenalin deutlich schneller nachlässt. Hier unterscheidet sich Clonidin von diesen Katecholaminen.

4.4 Clonidin-Wirkung unter Ranitidin-Gabe

In der Fachliteratur existieren unterschiedliche und voneinander abweichende Angaben, inwiefern Clonidin auf Histamin-H₂-Rezeptoren wirkt. Die einen berichten, Clonidin übe keinen Einfluss auf H₂-Rezeptoren aus. Andere berichten von direkter Stimulation der H₂-Rezeptoren, wieder andere von indirekter Stimulation durch Freisetzung von Histamin aus endogenen Speichern. Eine Arbeit berichtet sogar von beiden Möglichkeiten. Tabelle 4.1 stellt die Literaturangaben im Überblick dar.

Tab. 4.1: Literaturübersicht der Beziehung zwischen Clonidin und H₂-Rezeptoren

Keine Beziehung	Direkte Wirkung	Indirekte Wirkung
Ally (1998) McCulloch et al. (1980)	Csongrady et al. (1974) Kawasaki et al. (1985) Medgett et al. (1980) Nakane et al. (1986) Rubio et al. (1982) Sanchez-Chapula (1981) Söhngen et al. (1988) Trist et al. (1985) Verma et al. (1980)	Kawasaki et al. (1985) Kenakin et al. (1981) Li et al. (1989) Light et al. (1979) Martinez-Mir et al. (1990)

Um festzustellen, ob und welche Wirkung Clonidin auf H₂-Rezeptoren entfaltet, werden diese in Versuchsgruppe 6 durch Ranitidin blockiert. Danach wird eine submaximale Einzeldosis Clonidin ($7,2 \cdot 10^6$ mol) appliziert.

In allen vier Abbildungen 3.6.1 - 3.6.4 wird deutlich, dass die nach Ranitidin-Gabe noch beobachteten Clonidin-Wirkungen möglicherweise auf den durch Clonidin bedingten Frequenzabfall zurückzuführen sind. Deshalb wurde die Herzfrequenz durch Stimulation des Herzens auf ihren Ausgangswert angehoben. Erst jetzt lässt sich die direkte Clonidin-Wirkung bei blockierten H₂-Rezeptoren erkennen (rechte Säule). Deswegen werden in den Abbildungen 3.7.1 - 3.7.5 die Frequenz-korrigierten Werte als Vergleichsgrundlage dargestellt.

Eine überzeugende Interpretation der Ergebnisse ist nur dann möglich, wenn Ranitidin in der verwandten Dosis eine komplette Blockade der H₂-Rezeptoren und damit des Histamin bewirkt. Die dritte Säule in den Abbildungen 3.7.1 - 3.7.5 zeigt: Die Wirkung des Histamin ist nahezu vollständig blockiert bzw. sogar negativ. Ranitidin wurde dem Perfusat also in ausreichender Dosierung hinzugefügt.

In den Abbildungen 3.7.1 - 3.7.5 wird bei Betrachtung der beiden linken Säulen klar, dass Ranitidin den Effekt von Clonidin weitgehend blockiert. Clonidin besitzt unter Einwirkung von Ranitidin in einer Dosierung, die die Histamin-Wirkung nahezu völlig ausschaltet, bei Konstanthaltung der Herzfrequenz nur noch eine leichte positiv inotrope und positiv lusitrope Wirkung (Abb. 3.7.1 und 3.7.2). In der Konsequenz zeigt sich das auch beim Sauerstoffverbrauch und Koronarfluss. Das ist der Beweis dafür, dass H₂-Rezeptoren bei der Vermittlung der Clonidin-Wirkung zumindest eine Rolle spielen, bei der maximalen Druckanstiegs- und Druckabfallsgeschwindigkeit sogar deutlich. Sanchez-Chapula (1981) kommt ebenso wie Csongrady et al. (1974) zu dem Ergebnis, dass Clonidin über H₂-Rezeptoren eine deutliche positiv inotrope Wirkung vermittelt - am isolierten

Papillarmuskel bzw. Gesamtherzpräparat des Meerschweinchens.

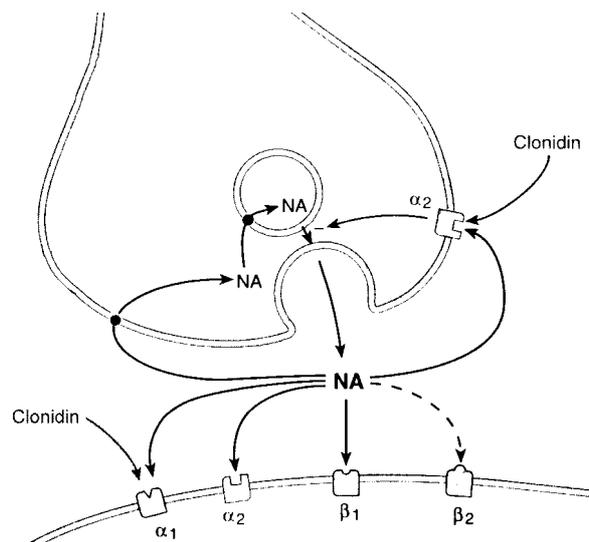
Der deutliche Frequenzabfall um 25 % unter Clonidin (Kap. 3.6) ist nicht H_2 -Rezeptor-vermittelt. Nach H_2 -Blockade wird der Frequenzabfall noch leicht verstärkt. Keinesfalls aber ist eine abgeschwächte Wirkung zu messen.

Die von Rubio et al. 1982 gewonnenen Ergebnisse, Clonidin wirke auf isolierte Vorhöfe von Meerschweinchen positiv chronotrop, können am Gesamtherzpräparat nicht bestätigt werden, ebenso wenig wie die Annahme, dies geschehe über H_2 -Rezeptoren.

Die pauschale Aussage, dass die Wirkung von Clonidin am Herzen keinesfalls über Histamin- H_2 -Rezeptoren vermittelt wird, wird durch die vorliegende Studie widerlegt. Auch eine endogene Freisetzung von Histamin und damit indirekte Wirkung von Clonidin scheidet als Möglichkeit weitgehend aus, da wiederholte Clonidin-Einzeldosen die Inotropie mit jedem Mal steigern statt in der Wirkung nachzulassen bei zunehmender Histamin-Entspeicherung (s. Kap. 4.3).

In der Literatur wird berichtet (s. Kap. 4.1.2), dass es bei Meerschweinchen keine myokardialen α_2 -Adrenozeptoren gibt. Das schließt ihre Existenz an präsynaptischen Nervenendigungen im Herzen nicht aus. Abbildung 4.3 zeigt eine Nervenendigung mit einem post-, aber auch präsynaptischen α_2 -Rezeptor. Eine Clonidin-Wirkung ist im Tierherzen also über den präsynaptischen α_2 -Rezeptor möglich. Hier hemmt es die Freisetzung von Noradrenalin (NA) und damit die Stimulation der postsynaptischen Adrenozeptoren. Das ist eine plausible Erklärung für die negativ chronotrope Wirkung des Clonidin.

Abb. 4.3: Prä- und postsynaptische Adrenozeptoren (modifiziert nach Forth et al. 1996)



Andererseits stimuliert Clonidin direkt den postsynaptischen α_1 -Rezeptor (s. Kap. 4.1.2). Diese Stimulation muss der Hemmung der Noradrenalin-Ausschüttung unterlegen sein, zumindest bezüglich der Chronotropie. Bei den postsynaptischen Zellen muss insbesondere an die Sinusknoten-Zellen im rechten Vorhof gedacht werden (Rand et al. 1986). Bezogen auf die positive Inotropie wirkt die postsynaptische α_1 -Stimulation synergistisch mit der H_2 -Aktivierung.

4.5 Clonidin-Wirkung auf isoliert arbeitende Rattenherzen

In der Literatur wird berichtet, dass Clonidin an isoliert arbeitenden Rattenherzen keine Wirkung hat. Die Clonidin-Versuche der vorliegenden Arbeit werden lediglich durchgeführt, um festzustellen, ob das auch für die Relaxationsparameter gilt, die hier erstmals untersucht werden.

Es kann im Wesentlichen gezeigt werden, dass Clonidin keine signifikanten Effekte auf Rattenherzen hat, auch nicht auf die Relaxation. Der leichte Anstieg der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit (bei der geringen Versuchszahl $n=3$ nicht signifikant) wird wohl durch den signifikanten Anstieg des linksventrikulären enddiastolischen Druckes (Abb. 3.9.1) verursacht (Frank-Starling-Mechanismus) und den negativen Bowditch-Effekt (s.u.), nicht aber durch eine positiv inotrope Wirkung selbst.

Lazou et al. (1994) stellen fest, dass Clonidin am Rattenherzen ein Inhibitor des α_{1b} -Rezeptors ist. In Kap. 4.1 wird berichtet, dass Clonidin zu diesem Rezeptor eine hohe Affinität hat (Benfey 1990) und dass der α_{1b} -Rezeptor verantwortlich ist für die Vermittlung der positiven Inotropie des Clonidin bei Meerschweinchenherzen. Die Befunde stimmen mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit überein, dass Clonidin am Meerschweinchenherzen eine positiv inotrope Wirkung entfaltet, bei Rattenherzen aber nicht.

Die Wirkung auf die Herzfrequenz ist qualitativ die gleiche wie beim Meerschweinchen, nicht jedoch quantitativ. Bei Rattenherzen senkt Clonidin die Frequenz um 17 %, bei Meerschweinchenherzen nur um 3 %. In der Annahme, die negativ chronotrope Clonidin-Wirkung wird α_2 -vermittelt (Kap. 4.4), bedeutet das, dass Schrittmacherzellen von Ratten an ihrer Oberfläche α_2 -Rezeptoren tragen im Gegensatz zu den Zellen des Arbeitsmyokards.

Der Frequenzabfall wirkt sich negativ auf das Schlagminutenvolumen aus, was zum Anstieg des enddiastolischen Drucks und schließlich zur Steigerung der Kontraktilität (Frank-Starling-Mechanismus) führt. Daneben ist der bei Ratten negative Bowditch-Effekt zu berücksichtigen, der bei einer Frequenzminderung von immerhin 40 Schlägen/min zu einer geringen Inotropie-Zunahme führt. Es ist deshalb davon auszugehen, dass der positiv inotrope Clonidin-Effekt bei Ratten indirekt durch die beiden genannten Mechanismen zustande kommt und nicht durch direkte Clonidin-Wirkung.

4.6 Auswaschen von Clonidin aus dem Perfusat

Das Verhalten der verschiedenen kardialen Parameter beim Auswaschen von Clonidin aus dem Herzen ist bisher in der Literatur nicht beschrieben worden. Hier wird das erstmalig am isolierten Herzpräparat durchgeführt.

Versuche in der eigenen Arbeitsgruppe ergaben, dass beim Auswaschen hoher Histamin-Dosen die Herzen dekompensieren. Der Grund war nicht erkennbar. Das schlagartige Auswaschen der kumulativen Gesamtdosis Clonidin aber tolerieren die Meerschweinchenherzen.

Es ergab sich dann die Frage, ob die Herzen im Laufe des Auswaschens ein adaptives Verhalten zeigen, d.h. ob es nach dem Inotropie-Verlust wieder zu einer adaptiven Zunahme der Kontraktilität kommt. In der Tat steigt die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit nach ihrem Minimum (neun Minuten nach Auswaschbeginn) leicht, aber nicht signifikant an. Eine Adaptation kann man aus diesem Parameter allein also nicht ableiten. Deutlich aber wird die Adaptation bei Betrachtung des linksventrikulären enddiastolischen Drucks. Der steigt durch das Auswaschen auf mehr als das Doppelte an, fällt dann aber signifikant wieder ab ($p < 0,01$). Das bedeutet eine initiale stark negativ inotrope Belastung des linken Ventrikels durch das Auswaschen und eine anschließende Kompensation des Inotropie-Verlustes, also eine Adaptation.

Der enddiastolische Druck ist abhängig vom enddiastolischen Füllungsvolumen und somit vom venösen Rückfluss zum Herzen und von der Inotropie des Herzens, durch die das Schlagvolumen und damit das endsystolische Restvolumen im Ventrikel bestimmt wird. Da in den vorliegenden Versuchen der Zufluss zum Herzen konstant gehalten wird, ist der enddiastolische Druck allein vom inotropen Zustand des linken Ventrikels abhängig.

Hier ist zu berücksichtigen, dass entsprechend dem Frank-Starling-Mechanismus ein Abfall des enddiastolischen Drucks zu einer Minderung der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit ($LV dp/dt_{max}$) führt. Das ist wohl der Grund, warum $LV dp/dt_{max}$ in der Adaptationsphase (nach der fünften Minute des Auswaschvorgangs) nicht signifikant ansteigt. Wäre in diesem Abschnitt der Wiederabfall des enddiastolischen Drucks verhindert worden, d.h. LVEDP nach Erreichen des Maximums konstant gehalten worden, wäre $LV dp/dt_{max}$ sicher erheblich deutlicher, evtl. sogar signifikant angestiegen.

Schmidt (2001) konnte zeigen, dass bei Rattenherzen durch eine abrupte Reduktion der Kalzium-Konzentration im Perfusat nach einem initialen Inotropie-Abfall in den folgenden Minuten wieder eine Inotropie-Verbesserung erfolgt. Dieses adaptive Verhalten wird auch beobachtet, wenn umgekehrt die Kalzium-Konzentration rasch erhöht wird. Dann kommt es in den folgenden Minuten zu einem Inotropie-Abfall im Anschluss an den initialen Anstieg.

Eine Änderung der intrazellulären Kalzium-Konzentration ergibt sich auch unter der Wirkung der meisten positiv inotrop wirkenden Substanzen, deren Wirkung ja gerade auf einer Zunahme der mittleren zytosolischen Kalzium-Konzentration beruht. Eine besonders starke, wenn auch nur kurzzeitige, inotrope Wirkung entfalten die Katecholamine, die über second messenger eine Phosphorylierung der Kalzium-Kanal-Proteine bewirken. Dadurch nimmt der Kalzium-Einstrom in die Zelle von extrazellulär sowie aus dem sarkoplasmatischen Retikulum zu. Darum war es nahelegend zu prüfen, ob auch hier ein adaptives Verhalten des Myokards nachweisbar ist. Leider kann das

nicht geprüft werden, indem das isolierte Herz plötzlich einer hohen Katecholamin-Konzentration ausgesetzt wird (z.B. durch Umschalten auf ein Perfusat mit hoher Noradrenalin- oder Isoprenalin-Konzentration), da auch am isolierten Herzpräparat die inotrope Wirkung dieser Substanzen relativ schnell nachlässt. Ein adaptives Verhalten der ventrikulären Kontraktilität lässt sich aber untersuchen, indem eine hohe Katecholamin-Konzentration durch Auswaschen mit Katecholamin-freiem Perfusat eliminiert wird. Solche Versuche wurden in der Arbeitsgruppe mit Noradrenalin und Isoprenalin durchgeführt. Dabei zeigte sich in der Tat ein adaptiver Wiederanstieg der Inotropie nach initial starkem Abfall. Ähnliche Ergebnisse wurden mit Glukagon (Husmann I, Dissertation in der Arbeitsgruppe), das wie die Katecholamine zu einer cAMP-Aktivierung führt, und mit Forskolin (Rashvand J, Dissertation in der Arbeitsgruppe), das direkt die Adenylatzyklase stimuliert, gefunden. Da nach Clonidin-Gabe beim isolierten Herzen die erhöhte Kontraktilität ebenfalls wieder absinkt (Abb. 3.5.1), wenn auch langsamer als bei den Katecholaminen, kann auch mit Clonidin das adaptive Verhalten nur beim Auswaschen untersucht werden. Das Ergebnis der vorliegenden Studie zeigt insbesondere durch den Wiederabfall des enddiastolischen Drucks (Abb. 3.8.1), dass auch nach Auswaschen von Clonidin ein adaptives inotropes Verhalten festgestellt werden kann. Während beim Auswaschen von hohen Histamin-Konzentrationen die Herzen regelmäßig dekompensierten (Hübner K, Dissertation in der Arbeitsgruppe), war dies bei Clonidin nicht der Fall.

Die Adaptation wird nicht primär durch den Koronarfluss verursacht (Gregg-Effekt: Gregg 1963, Schipke et al. 2001). Der Koronardurchfluss fällt nach initialem Abfall signifikant weiter ab, trägt also nicht zur Steigerung der Kontraktilität bei.

Auch bei Betrachtung der Herzfrequenz wird klar, dass ein Bowditch-Effekt als Ursache für die Adaptation des Herzens nach dem Auswaschen von Clonidin nicht in Frage kommt. Die Herzfrequenz steigt zwar im Verlauf leicht an um 4 %, aber der Anstieg ist zu gering und zudem nicht signifikant. Die Herzfrequenz kann als Ursache für die adaptive Kontraktilitätssteigerung somit nicht verantwortlich sein.

Die maximale Druckabfallgeschwindigkeit fällt zunächst rapide und dann fortlaufend kontinuierlich ab. Auch die Relaxationszeitkonstante τ zeigt einen kontinuierlichen Anstieg. Eine Adaptation, also Verbesserung der Relaxation nach dem initialen Abfall, findet nicht statt.