

## ADRENALINOXYDATION UND DIE ERSTE HYPERGLYKÄMISCHE PHASE DES ALLOXANDIABETES

von

Nikša Allegretti und Dora Pečornik

Seit der Entdeckung des experimentellen Alloxandiabetes durch *Dunn* und Mitarbeiter<sup>1)</sup> haben sich viele Forscher bemüht, den Mechanismus seiner Entstehung zu ergründen. Die genannten Autoren haben die Nekrosis der *Langerhans* schen Inselzellen und den irreversiblen Diabetes nach Zufuhr von Alloxan beschrieben. Eine Alloxandosierung von 200—300 mg pro kg Körpergewicht ist imstande bei den Versuchstieren (Hunden, Ratten, Kaninchen und anderen) einen dauernden Diabetes hervorzurufen<sup>2, 3, 4, 5, 6)</sup>. Die Folgen sind gleich jenen bei der Pankreasextirpation, weshalb dieser Versuch auch »Chemische Pankreatektomie« genannt wurde. *Huges, Ware und Young*<sup>7)</sup> haben eingehend die nach der Alloxanzufuhr bei Ratten und Kaninchen entstandenen Veränderungen analysiert. Sie konstatierten bei Ratten schon 5 Minuten nach einer intravenösen Alloxanzufuhr von 300 mg pro kg Körpergewicht Veränderungen der Inselzellen. Vor allem betreffen die Schädigungen, nach diesen Autoren, die  $\beta$ -Zellen der Inseln, und zwar haben die grössten Inseln die grössten Veränderungen aufgewiesen. Nach *Dunn* und Mitarbeitern<sup>1)</sup> ruft eine einzige Dosis eine anfängliche vorübergehende Hyperglykämie hervor, die nach einigen Stunden vergeht, wonach eine Hypoglykämie und endlich eine ständige Erhöhung des Blutzuckerspiegels folgt<sup>3, 4, 5, 6)</sup>.

Die erste vorübergehende hyperglykämische Phase — der Gegenstand unseren Untersuchungen — ist nach *Hard* und *Carroll*<sup>8)</sup>, wie auch *Huges, Ware und Young*<sup>7)</sup> die Folge der Stimulation der Adrenalin ausschüttung. Diese Autoren haben nach der Anwendung von Alloxan eine typische Adrenalin-Blutdruckerhöhungskurve registriert. Folgte der Alloxanzufuhr sogleich eine Adrenalin einspritzung so verdoppelte sich die Blutzuckererhöhung gegenüber der bei der Einspritzung von Adrenalin allein.

Die obige Theorie über den Mechanismus der Entstehung der ersten hyperglykämischen Phase wurde durch die Versuche von *Göldner* und *Gomori*<sup>9)</sup>, die bei adrenaletomierten Kaninchen durch Alloxan keine anfängliche Hyperglykämie hervorrufen konnten, bestätigt. *Houssay* und Mitarbeiter<sup>10)</sup> bestritten diese Angaben mit Bezug auf die an Hunden vorge-

nommenen Experimente, bei welchen nach einer Adrenalectomie oder Denervation der Nebenniere eine typische hyperglykämische Reaktion zustande kommt.

Daraus ist ersichtlich, dass bei diesen Untersuchungen auf die anfängliche Hyperglykämie Gewicht gelegt wurde, und dass die Verschiedenheit der Resultate zur Bildung von entgegengesetzten Ansichten und Hypothesen Anlass gegeben hat.

Nach Goldner und Gomori<sup>9)</sup> sei die hypoglykämische Phase des Alloxandiabetes die Folge der vergrösserten Ausscheidung des Insulin aus den degenerierenden Zellen. Sie konnten an pankreatektomierten Versuchstieren keine Hypoglykämie durch Alloxanzufuhr erreichen. Houssey und Mitarbeiter<sup>10)</sup> bestreiten auch diese Angaben und behaupten, bei den eben pankreatektomierten Hunden eine Hypoglykämie beobachtet zu haben, dagegen keine bei den hepatektomierten.

Aus dem vorgebrachten könnte man schliessen, dass Alloxan eine schädigende Wirkung auf den Pankreas ausübt, eine Erhöhung der Adrenalinausschüttung ins Blut hervorruft, die ihrerseits zu einer erhöhten Ausscheidung von Insulin führt, und dass die Leber dabei eine bis jetzt noch ungeklärte Rolle spielt.

Von der Voraussetzung, dass die Adrenalin oxydation im Organismus durch ein Ferment, welches die Thiolgruppe enthält, vollbracht wird (wahrscheinlich durch Sukcinodehydrase) und dass Alloxan seine Oxydation hemmt, bzw. dieses Ferment blockiert, ausgehend, haben wir versucht zu erforschen, ob eine Erhöhung des Adrenalinblutspiegels für das Zustandekommen der ersten hyperglykämischen Phase bei dem Alloxandiabetes verantwortlich wäre. Nach Hare<sup>11)</sup> wie Blaschko, Richter und Schlossmann<sup>12)</sup> wird Adrenalin oxydativ desaminiert durch Monoaminoxydase. Dass Monoaminoxydase Thiolgruppen enthält, zeigten Singer und Barron<sup>13)</sup>.

Die Ringoxydation des Adrenalin findet nach Fahrlander<sup>14)</sup> hauptsächlich in der Leber statt, wobei Sukcinodehydrase eine dominante Rolle spielt.

Nun wird die Frage gestellt, erstens, ob die Adrenalin oxydation (die, wie oben ausgegeben, in beiden Fällen durch Thiolgruppen enthaltende Fermente vor sich geht), durch Alloxan gehemmt wird, und zweitens, ob dadurch wirklich eine Erhöhung des Adrenalinblutspiegels hervorgerufen werden kann. Ist das der Fall, so müsste gleichzeitig mit der Blutdruckerhöhung auch die Hyperglykämie, die einer dauernden Schädigung der Inselzellen vorausgeht, zustande kommen.

## Versuchsanordnung

Die hemmende Wirkung von Alloxan auf die Adrenalin-oxydation wurde in den Homogenaten der verschiedenen Gewebe nach dem Warburg'schen Verfahren untersucht. Auf diese Art wurde nur die Ringoxydation des Adrenalin gemessen, da wir die Autooxydation und oxydative Desaminierung von dem gesamten Sauerstoffverbrauch bei der Auswertung abgezogen haben.

Es wurde eine wässrige Lösung von Alloxan (im Institute dargestellt) in der Endkonzentration  $1 \times 10^{-3}$  m verwendet.

Die Homogenate wurden aus den Organen des Kaninchens (Muskel, Herz, Hirn und Niere) hergestellt. Die Versuche wurden in der Lösung von m/15 Phosphatpuffer von pH = 7,4 durchgeführt bei der Temperatur von 37°C. Gasphase : Luft.

Die oxydative Desaminierung wurde nach Conway's<sup>15)</sup> verfahren bestimmt.

Der Blutdruck wurde in der Femoralarterie gemessen.

Der Blutzucker wurde nach der Methode von Haagendorn und Jensen bestimmt.

In vitro wurde Adrenalin (»Merck«) als Pulver verwendet, daweil machten wir bei der intravenöser Zufuhr immer von Adrenalin 1 : 1000 (»Pliva«) in Ampullen gebrauch.

Die Versuche in vivo wurden an Kaninchen und Hunden durchgeführt. Es wurden keine Unterschiede, das Geschlecht der Versuchstiere betreffend, beobachtet.

## Versuchsergebnisse und Besprechungen

Die nach Conway's<sup>15)</sup> Verfahren untersuchte oxydative Desaminierung von Adrenalin wurde nicht durch Alloxan beeinflusst. In keinen von den 48 Versuchen wurde eine Verminderung der Amoniakproduktion beobachtet. Monoaminoxidase wird also nicht durch Alloxan gehemmt, obwohl sie in ihrem Molekül die Thiolgruppe enthält. Die Versuche wurden mit dem Homogenaten und Acetonpulver der Organe: Leber, Niere, Herz und Skelettmuskel ausgeführt. Es folgt daraus, dass jeder eventuellen Hemmung des Sauerstoffverbrauches, nach Warburg'schen Verfahren registriert, eine Inhibition der Ringoxydation entspricht. Es wurde klargestellt, dass die Autooxydation durch Alloxan weder gehemmt noch beschleunigt wird. Die hemmende Wirkung von Alloxan auf die Ringoxydation des Adrenalin ist in der Tabelle I. dargestellt. Wir führten 35 Messungen aus, die alle gleichsinnig waren.

Tabelle I.

Hemmung der Adrenalinoxydation durch Alloxan

Jedes Gefäß enthält Adrenalin in der Endkonzentration von  $1 \times 10^{-3}$  m Alloxan ist auch in der Endkonzentration von  $1 \times 10^{-3}$  m. Das Gewebshomogenat — durch ein m/15 Phosphatpulver pH = 7,4 aa verdünnt — ist in der Menge von 2 ccm in jedem Gefäß vorhanden. Temperatur 37°C Gasphase: Luft. Die Versuche in Conway schen Gefäßen unter selben Bedingungen. Zahlen geben den Sauerstoffverbrauch in ccm an.

	Leber		Niere		Muskel		Gehirn		Herz	
	ohne	mit								
	Alloxan		Alloxan		Alloxan		Alloxan		Alloxan	
Sauerstoffverbrauch	396,6	302,8	358,3	291,0	309,3	229,1	285,9	240,0	273,5	243,3
Autooxydation	108,2	109,1	101,0	104,5	107,9	107,0	106,5	98,9	106,0	111,3
Oxydative Desamination	66,2	66,0	69,7	63,7	2,3	2,1	17,2	16,6	9,1	9,3
Ringoxydation	222,2	127,7	186,7	122,3	199,2	119,0	162,2	124,5	158,4	122,2
Hemmung in Prozent	—	42,6	—	34,2	—	41,0	—	23,2	—	22,8

Wie es aus der Tabelle I. hervorgeht, beträgt die Hemmung 22 bis 43%. Die Hemmung erreicht die höchsten Werte bei der Leber, die niedrigsten dagegen bei dem Hirn und dem Herzen. Adrenalinoxydation wird also durch Alloxan in allen untersuchten Organen und am meiste in der Leber gehemmt.

Wenn die Adrenalinoxydation in vitro durch Alloxan beeinflussbar ist, so ist zu erwarten, dass auch in Organismus der Adrenalineffekt nach Zufuhr von Alloxan verlängert wird. Die Blutdruckerhöhende Wirkung des Adrenalins wird viel länger anhalten da es zu einer Verzögerung der Adrenalinoxydation kommt.

Solche Versuche haben uns gezeigt, dass Adrenalinwirkung am Blutdruck viel länger dauert im Falle, dass Adrenalin erst nach dem Alloxan eingespritzt wird. Diesen Effekt bekamen wir durch die Einspritzung von Alloxan in die Vena saphena der Kontralateral-Seite. Der Unterschied wurde am deutlichsten wenn Alloxan und Adrenalin in die Vena portae injiziert wurden, was den in der Tabelle I. geschilderten Versuchen entsprechen würde. Bei der Einspritzung in die Pfortader nahmen wir an, dass Adrenalin in den engsten Kontakt mit der

Leber betreten ist und dass bereits in der Leber der grösste Teil seiner Oxydation vor sich geht. Die Einspritzung in die Arteria carotis war zwecklos wegen der Undurchlässigkeit der hematoencephaler Barriere für Adrenalin<sup>10</sup>).

Es wurde die Frage gestellt, ob die vergrösserte Menge des Adrenalin die Ursache der ersten hyperglykämischen Phase des experimentalen Diabetes ist, und ob — wie das von Housay und Mitarbeitern behauptet wurde — die Leber eine Rolle in dieser initialer Hyperglykämie spielte.

Nach den früher angeführten Ergebnissen kann die Verlängerung der Adrenalinblutdruckerhöhung nach der intravenösen Anwendung von Alloxan, wie Hard und Carr gezeigt haben, als Hemmung der Adrenalinoxidation bzw. Vernichtung seiner Tätigkeit erklärt werden. Adrenalin wird am schnellsten in der Leber und in der Niere oxydiert, im geringeren Ausmass in den übrigen Organen. In der Leber wird ausserdem auch die grösste Hemmung der Adrenalinoxidation durch Alloxan erreicht. Aus diesen Gründen können wir den Angaben von Housay nicht beipflichten. Denn, da die Leber das Organ darstellt, das nach unseren Versuchen die Adrenalinoxidation am schnellsten durchführt, wäre zu erwarten, dass nach Leberextirpation die oxydative Entfernung des Adrenalins aus der Zirkulation längere Zeit beansprucht wird und die Blutdruckerhöhung infolge Adrenalin länger dauern wird. Daher schliessen wir dass die Funktion des Alloxan in der Auslösung der ersten hyperglykämischen Phase des experimentellen Alloxandiabetes in der Hemmung der Oxydationsenzyme die die Ringoxydation von Adrenalin durchführen, besteht. Alloxan als ein typischer Inhibitor der die thiolgruppenenthaltenden Enzyme kann gerade durch diese seine Eigenschaft die Adrenalinoxidation hemmen, weil diese am wahrscheinlichsten durch Succinodehydrase bzw. Succinoxidasesystem vollgebracht wird.

### Zusammenfassung

Alloxan ist imstande die Ringoxydation von Adrenalin in vitro zu hemmen, und zwar am stärksten in dem Homogenat und Acetonpulver der Leber, Muskel und Niere, während diese Wirkung bei Hirn und Herz viel geringer ist. Die oxydative Desaminierung von Adrenalin wird durch Alloxan nicht gehemmt, obwohl sie durch Monoaminoxidase, die in ihrem Molekül Thiolgruppen enthält, zustande kommt. Eben so wird die Adrenalinoxidation in vivo durch Alloxan gehemmt (am meisten in der Leber) was mit den im vitro gewonnenen Resultaten übereinstimmt. Durch diese Versuche wird die Rolle der Leber in der ersten hyperglykämischen Phase des experimentellen Alloxandiabetes einigermaßen geklärt.

## LITERATUR

- 1) Dunn, J. S., Sheehan, H. L., Mc Letchie N. G. B., *Lancet*, 1943, 484.
- 2) Goldner, M. G., Gomori, G., *Endocrinology*, 33, 297, 1943.
- 3) Gomori, G., Goldner, M. G., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 54, 287, 1943.
- 4) Bailey, O. T., Bailey, C. C., Hagan, W. H. *Am. J. Med. Sci.*, 208, 450 1944.
- 5) Bailey, C. C., Bailey, O. T., Leech, R. S., *New England J. Med.*, 230, 533, 1944.
- 6) Carrasco-Formiguera R., *J. Lab. Clin. Med.*, 29, 510, 1944.
- 7) Hughes, H., Ware, L. L., Young, F. G., *Lancet*, 1944, 148.
- 8) Hard, W. L., Carr, C. Y., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 55, 214, 1944.
- 9) Goldner, M. G., Gomori, G., *Endocrinology*, 35, 241, 1944.
- 10) Houssay, B. A., Orias, O., Sara, I., *Science*, 102, 197, 1945.
- 11) Hare, M. C. K., *Biochem. J.*, 22, 968, 1928.
- 12) Blaschko, H., Richter, D., Schlossmann, H., *J. Physiol.*, 90, 1, 1937.
- 13) Singer, F. P., Barron, E. S. G., *J. Biol. Chem.*, 157, 241, 1945.
- 14) Fahrländer, H., *Helv. Physiol. Acta*, 4, 181, 1946.
- 15) Conway, E. J., *Biochem. J.*, 27, 419, 1933.
- 16) Leimdorfer, A., Arana, R., Hack, M. H., *Amer. J. Physiol.*, 150, 588, 1947.

PHYSIOLOGISCHES INSTITUT  
MEDIZINISCHE FAKULTÄT  
ZAGREB, KROATIEN

Eingegangen am 9. Juni 1950

## IZVOD

### Oksidacija adrenalina i prva hiperglikemična faza aloksanskog diabetesa

Nikša Allegretti i Dora Pečornik

Istraživanjima Warburg-ovom tehnikom vidjeli smo, da aloksan in vitro inhibira oksidaciju adrenalina na prstenu. Ova inhibicija najjače je izražena u jetri, mišiću i bubregu, dok je u mozgu i srčanom mišiću slabija. Obzirom da se oksidacija adrenalina na prstenu zbiva preko fermentativnog sistema, koji sadrži sukcinodehidrazu, doveli smo ovo svojstvo aloksana u vezu sa njegovim djelovanjem na tiolne skupine u molekuli fermenta.

Aloksan ne inhibira djelovanje monoaminoooksidaze, iako ova također sadrži tiolne skupine.

Pokusima in vivo pokazali smo, da nakon primjene aloksana djelovanje adrenalina na krvni tlak biva produljeno, što potvrđuje pretpostavku, da je oksidacija adrenalina inhibirana. I ovaj je učinak najjače izražen u jetri, što daje ovom organu posebnu ulogu u prvoj fazi aloksanskog diabetesa.

ZAVOD ZA FIZIOLOGIJU  
MEDICINSKI FAKULTET  
ZAGREB

Primaljeno 9. lipnja 1950.