

Über die Identität der Ionenpumpen-ATPase in der Zellmembran des Herzmuskels mit einem Digitalis-Rezeptorenzym

Von K. REPKE und H. J. PORTIUS*

Vorangegangene Untersuchungen über das Stoffwechselschicksal von Digitalis¹ haben zum Verständnis der Pharmakodynamik dieser Verbindungsklasse beigetragen². Einige Digitalisprobleme liessen sich jedoch auf diesem Wege nicht klären. Unverstanden blieben beispielsweise die auffälligen Speciesdifferenzen in der Digitalisempfindlichkeit³ sowie die beträchtlichen Unterschiede in der Wirksamkeit verschiedener Vertreter wie Digitoxin und Dihydro-digitoxin⁴. Die Klärung dieser Probleme schien uns weitgehend von der Beantwortung der Frage nach Natur und Funktion eines Digitalisrezeptors abzuhängen²⁻⁴. In Übereinstimmung mit der Theorie von GREEN über den Wirkungsmodus von Spurensstoffen⁵ haben wir den postulierten Digitalisrezeptor in einem enzymatischen System gesucht². Die Fermente, welche die Biotransformation der Digitalis bewirken, liessen sich als Rezeptoren ausschliessen². Die wohlbekanntesten Effekte der Digitalis auf aktive Ionen Transporte (SCHATZMANN, S. 6-11) führten uns zu der Vorstellung, dass der Rezeptor mit einer Ionenpumpen-ATPase¹² (vgl. SKOU¹³) in der Zellmembran des Herzmuskels identisch sein könne².

Eine Beziehung zwischen dem Wirkungsmodus der Digitalis und der Spaltung von ATP geht schon aus der wiederholt gemachten Beobachtung hervor, dass die therapeutische (positiv-inotrope) Wirkung der Digitalis nur bei Intaktheit der energieliefernden Stoffwechselreaktionen, das heisst bei ausreichendem Gehalt an Kreatinphosphat und ATP, zustande kommt¹⁴⁻²¹. Die Spaltung von ATP liefert unmittelbar die Energie für die Muskelkontraktion (LOHMANN und OHLMEYER²²). Die ATPasen der kontraktilen Eiweisse werden von Digitalis in pharmakologisch belangvoller Konzentration nicht sicher beeinflusst²³ und scheinen damit als Digitalisrezeptoren ausgeschlossen. Aber auch während der Muskeler schlaffung wird ATP gespalten^{24, 25}. Diese Extraspaltung von ATP dient offenbar dem Rücktransport von Natrium-Ionen, die in der Depolarisationsphase in die Muskelzelle eingedrungen sind, und von Kalium-Ionen, die während der Repolarisation das Sarkoplasma verlassen haben^{24, 26}.

Der Transport dieser Ionen wird von einer ATPase besorgt, die in der isolierten Zellmembran des Herzmuskels enthalten und digitalisempfindlich ist^{2, 27-30}. Zwecks Klärung der Frage, ob das Ferment mit dem postulierten Digitalisrezeptor identisch sein kann, werden im folgenden die bekannten Bedingungen für die Digitaliswirkung auf die Kontraktilität, den aktiven Na⁺/K⁺-Transport (Ionen transport) und die Ionenpumpen-ATPase für Na⁺ und K⁺ (Transport-ATPase)

miteinander verglichen. Da nicht alle hierbei interessierenden Eigenheiten der Digitaliswirkung am Herzmuskel studiert worden sind, werden für den Vergleich auch Beobachtungen an extrakardialen Geweben herangezogen. Im Interesse dieser Untersuchung wird es

* Institut für Biochemie, Institute für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Buch (DDR), 18. April 1963.

¹ Mit Digitalis werden hier die kardiotonischen Steroide des Cardenolid- und Bufadienolidtyps einschliesslich ihrer Glykoside bezeichnet.

² K. REPKE, Proc. First Intern. Pharm. Meeting, Stockholm (1961), (Pergamon Press, Oxford 1963), vol. III, p. 47.

³ H. J. PORTIUS, I. HERRMANN und K. REPKE, Arch. exp. Path. Pharmac. 241, 534 (1961).

⁴ K. REPKE, Arch. exp. Path. Pharmac. 241, 165 (1960).

⁵ D. E. GREEN, Advanc. Enzymol. 1, 177 (1941).

⁶ W. WILBRANDT, Wien. med. Wschr. 108, 809 (1958).

⁷ J. B. KAHN JR., Proc. First Intern. Pharm. Meeting, Stockholm (1961), (Pergamon Press, Oxford 1963), vol. III, p. 111.

⁸ A. FARAH und P. N. WITT, Proc. First Intern. Pharm. Meeting, Stockholm (1961), (Pergamon Press, Oxford 1963), vol. III, p. 137.

⁹ K. S. LEE, Proc. First Intern. Pharm. Meeting, Stockholm (1961), (Pergamon Press, Oxford 1963), vol. III, p. 185.

¹⁰ P. G. WASER, Schweiz. med. Wschr. 92, 819 (1962).

¹¹ M. WEATHERALL, in Ciba Foundation Symposium on Enzymes and Drug Action (1962), (Eds. J. L. MONGAR und A. V. S. DE REUCK, J. & A. Churchill Ltd., London 1962), p. 115.

¹² Die benutzten Abkürzungen sind: ATPase für Adenosin triphosphatase, ATP für Adenosin triphosphat, Tris für Tris(hydroxymethyl)aminomethan.

¹³ J. C. SKOU, in Symposium on Membrane Transport and Metabolism (Ed. A. KLEINZELLER und A. KOTYK, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague 1961), p. 228.

¹⁴ W. F. WHITE und W. T. SALTER, Fed. Proc. 5, 200 (1946).

¹⁵ A. M. WEDD und H. A. BLAIR, Proc. Soc. exp. Biol. Med. N.Y. 63, 304 (1948).

¹⁶ A. WOLLENBERGER und M. L. KARSH, J. Pharm. exp. Therap. 105, 477 (1952).

¹⁷ S. ELLIS, J. Pharm. exp. Therap. 109, 233 (1953).

¹⁸ A. LOUBATIÈRES und A. SASSINE, J. Physiol. (Paris) 46, 444 (1954).

¹⁹ E. ROTHLIN, M. TAESCHLER und A. CERLETTI, Circul. Res. 3, 32 (1955).

²⁰ C. C. GRUZZIT und A. E. FARAH, J. Pharm. exp. Therap. 114, 334 (1955).

²¹ R. F. FURCHGOTT und K. S. LEE, Circulation 24, 416 (1961).

²² K. LOHMANN und P. OHLMEYER, in Physiologische Chemie (Hrsg. B. FLASCHENTRÄGER und E. LEHNARTZ, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956), Bd. II/2a, p. 570.

²³ A. WOLLENBERGER, Acta biol. med. germ. Suppl.-Bd. I, 135 (1961).

²⁴ A. FLECKENSTEIN, E. GERLACH, J. JANKE und P. MARMIER, Pflügers Arch. ges. Physiol. 271, 75 (1960).

²⁵ A. A. INFANTE und R. E. DAVIES, Biochem. biophys. Res. Comm. 9, 410 (1962).

²⁶ R. D. KEYNES, in Symposium on Membrane Transport and Metabolism (Ed. A. KLEINZELLER und A. KOTYK, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague 1961), p. 131.

²⁷ H. J. PORTIUS und K. REPKE, Arch. exp. Path. Pharmac. 243, 335 (1962).

²⁸ H. J. PORTIUS und K. REPKE, Mber. Dt. Akad. Wiss. 5, 88 (1963).

²⁹ K. REPKE und H. J. PORTIUS, Mber. Dt. Akad. Wiss. 5, 90 (1963).

³⁰ H. J. PORTIUS und K. REPKE, Mber. Dt. Akad. Wiss. 5, 193 (1963).

weiter notwendig sein, ausgehend von unseren Befunden an der Transport-ATPase, die Ergebnisse anderer Autoren zu reinterpreten³¹.

(1) Der Herzmuskel hat keine synzytiale, sondern eine zelluläre Bauweise³². Der Wirkort der Herzglykoside, über den der kardiotope Effekt zustande kommt, kann auf Grund verschiedener Beobachtungen³³⁻³⁵ in der Zellmembran gesucht werden. Die Membran ist auch der Zellbestandteil, der durch Transportleistungen die Ungleichgewichte in der Ionenverteilung zwischen extra- und intrazellulärem Raum aufrechterhält³⁶. Die für den Ionentransport aufzuwendenden Energiebeträge sind nicht unbedeutend^{37,38}. Die ATPase, welche die Energie in transportwirksamer Form verwertet, ist ganz vorwiegend in der Zellmembran des Herzmuskels lokalisiert³⁹.

(2) Die bekannten Speciesunterschiede in der kardialen und extrakardialen Digitalisempfindlichkeit werden widergespiegelt durch entsprechende Differenzen in der Digitalisempfindlichkeit des Ionentransports in Erythrocyt³⁹, Schilddrüse⁴⁰ und Haut⁴¹ sowie der Transport-ATPasen von Erythrocyt² und Schilddrüse⁴².

(3) Die spezifische Digitaliswirkung ist unter anderem an einen Butenolidring oder einen Hexadienolidring in 17 α H-Position gebunden⁴³. Die gleichen strukturellen Voraussetzungen werden auch für die Hemmung des aktiven Ionentransports beim Erythrocyten⁴⁴ und bei der Schilddrüse⁴² sowie für die Hemmung der Transport-ATPase in der Zellmembran des Erythrocyten^{45,46} und in der Schilddrüse⁴² gefunden. Insbesondere wird die Wirksamkeit erheblich beeinflusst von der Sättigung der Doppelbindung im Laktoring, der

Umlagerung des Laktoringes von 17 α H- nach 17 β H-Position, der Verschiebung der Doppelbindung von $\Delta^{20,22}$ nach $\Delta^{17,20}$ (s. 47) oder der Erweiterung des Laktoringes von fünfgliedrig einfach ungesättigt auf sechsgliedrig doppelt ungesättigt. Diese Strukturvariationen verändern die Stärke der positiv-inotropen Wirkung auf das Myokard und die Grösse des hemmenden Effekts auf die Transport-ATPase des Herzmuskels in gleicher Richtung und in etwa gleichem Umfang (Tabelle I)⁴⁸.

³¹ Auf eine Wiedergabe der originären Deutungen muss zugunsten der Übersichtlichkeit der Darstellung verzichtet werden.

³² T. H. SCHIEBLER, Münch. med. Wschr. 103, 1 (1961).

³³ H. STUTZ, E. FEIGELSON, J. EMERSON und R. J. BING, Circul. Res. 2, 555 (1954).

³⁴ A. A. SEKUL und W. C. HOLLAND, Amer. J. Physiol. 199, 457 (1960).

³⁵ K. KOJIMA und K. MATSUSAKI, Acta med. Univ. Kagoshima 3, 14 (1960).

³⁶ I. S. EDELMAN, Ann. Rev. Physiol. 23, 37 (1961).

³⁷ R. D. KEYNES und G. W. MAISEL, Proc. Roy. Soc. B. 142, 383 (1954).

³⁸ R. WHITAM, Nature (London) 191, 603 (1961).

³⁹ K. PFLEGER, W. RUMMEL, E. SEIFEN und J. BALDAUF, Med. exp. 5, 473 (1961).

⁴⁰ J. WOLFF, Biochim. biophys. Acta 38, 316 (1960).

⁴¹ W. F. WIDDAS, Biochem. Pharm. 8, 123 (1961).

⁴² J. WOLFF und N. S. HALMI, J. biol. Chem. 238, 847 (1963).

⁴³ CH. TAMM, Proc. First Intern. Pharm. Meeting, Stockholm (1961) (Pergamon Press 1963), vol. III.

⁴⁴ I. M. GLYNN, J. Physiol. (London) 136, 148 (1957).

⁴⁵ E. T. DUNHAM und I. M. GLYNN, J. Physiol. (London) 156, 274 (1961).

⁴⁶ K. REPKE und H. J. PORTIUS, Arch. exp. Path. Pharmak. 241, 535 (1961).

⁴⁷ C. LINDIG und K. REPKE, Mber. Dt. Akad. Wiss. 5, 237 (1963).

⁴⁸ K. REPKE, II Conferentia hungarica pro Therapia et Investigatione in Pharmacologia (Budapest 1962) (Akadémiai Kiadó, Budapest), im Druck.

Tabelle I. Einfluss von Verbindungen der Digitalisreihe und von kardiotonisch wirksamen Verbindungen anderer chemischer Konstitution auf die Begleit- und Transport-ATPase der Zellmembran des Herzmuskels (Meerschweinchen). Weitere Angaben und Versuchsbedingungen in der Legende zur Figur 1

Verbindung	Konzentration μ Mol/l	Begleit-ATPase ^a		Transport-ATPase	
		Aktivierung %	Hemmung %	Hemmung %	H ₅₀ ^b μ Mol/l
Digitoxin	10	0	0	85	0,5
Dihydro-digitoxin	10	0	0	45	15
Digitoxigenin (17 α H-Digitoxigenin)	100	0	0	100	1
17 β H-Digitoxigenin	100	0	0	0	-
$\Delta^{17,20}$ -Digitoxigenin	100	0	0	0	-
Bufalin	10	0	0	100	0,15
Cassain (Erythropleum-Alkaloid)	100	0	0	100	0,5
d-Aldosteron	100	0	0	15	\geq 100
Spirolacton (SC-8109)	100	0	0	25	\geq 100
14 α , 17 α -Dihydroxy, 11-desoxycorticosteronsuccinat	100	0	0	20	\geq 100
Protoveratrin A + B (Veratrum-Alkaloide)	100	0	0	0	-
2,6-Bis(diäthanolamino)-4,8-dipiperidinopyrimido-(5,4-d)pyrimidin = Persantin	100	0	0	0	-
1-(β -Diäthylamino-äthyl)-3-phenyl-chinoxalin = CIBA 11072-Ba	100	0	0	0	-
Digitonin	100	160	-	70	50
Melittin (Fraktion I aus Bienengift)	\sim 0,4	15	-	50	\sim 0,4
Lysolecithin	\sim 50	14	-	25	$>$ 100
Sphingosinphosphorylcholin	10	170	-	55	10
p-Chloromercuribenzoat	50	-	30	90	10
Natriumfluorid	5000	-	25	95	2000

^a Na⁺ + K⁺-unabhängige ATPase-Aktivität in Gegenwart von Mg⁺⁺, ^b Konzentration, bei der eine 50%ige Hemmung des Ferments erreicht ist.

(4) Eine anhaltende und durchgreifende Verbesserung der Kontraktilität bei Herzschwäche wird nur mit Verbindungen des Digitalistyps erzielt. Eine Prüfung von 13 Verbindungen anderer chemischer Konstitution, die am isolierten Herzen eine kardiotope Wirkung gezeigt hatten, ergab, dass nur das Erythropleum-Alkaloid Cassain eine sowohl starke wie spezifische Hemmwirkung auf die Transport-ATPase des Herzmuskels ausübt (Tabelle I und Figur 1)^{29, 48}. Vom Cassain ist bekannt, dass es am isolierten Herzen eine positiv-inotrope Wirkung ähnlich der von Digitalis entfaltet⁴⁹ und am Erythrocyten den aktiven Ionentransport hemmt⁵⁰. Obgleich die klinische Anwendung von Cassain schon 1939 vorgeschlagen wurde⁵¹, ist über eine therapeutische Wirksamkeit bei Herzinsuffizienz nichts bekanntgeworden⁴⁹. An der Transport-ATPase des Herzmuskels lässt sich Cassain von Digitalis durch eine stärkere Ausprägung des Kaliumantagonismus (vgl. Abschnitt 7) unterscheiden^{29, 48}.

(5) Hypothermie wirkt positiv-inotrop⁵²⁻⁵⁶. Durch Herabsetzung der Temperatur werden der Umfang des aktiven Ionentransports⁵⁶⁻⁶⁰ und die Aktivität der Transport-ATPase (Figur 2) steil reduziert. Der Q_{10} beträgt zwischen 4° und 22°C über 3 für den Ionentransport (Skelettmuskel des Froschs)⁵⁷ und liegt zwischen 20° und 37°C bei 4-2 für die Transport-ATPase (Meerschweinchenherz; vgl. Figur 2).

(6) In Hypothermie ist die positiv-inotrope Wirksamkeit von Digitalis vermindert oder fehlend^{55, 56, 61-64} und wird auch der Digitaliseffekt auf den Ionentransport vermisst⁵⁶. Durch schrittweise Herabsetzung der Temperatur von 37° auf 20°C wird die Hemmwirkung

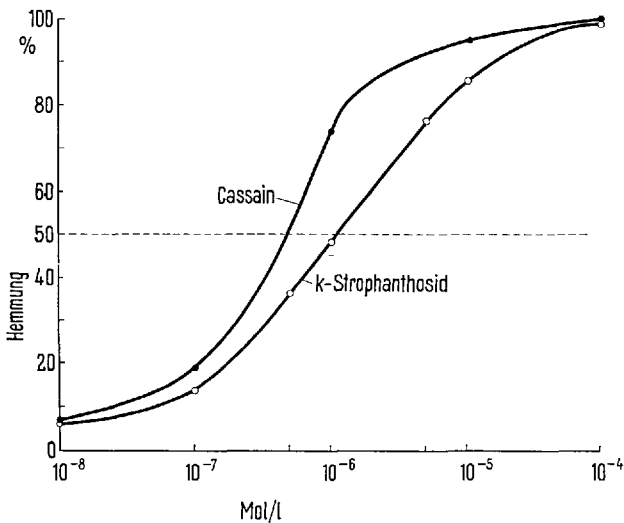


Fig. 1. Konzentrationsabhängigkeit der Hemmwirkung von k-Strophanthosid bzw. Cassain auf die Transport-ATPase der Zellmembran des Herzmuskels (Meerschweinchen). Versuchsbedingungen: $Mg^{++} = ATP = 2$ mmolar, $Na^+ = 135$ mmolar, $K^+ = 5$ mmolar, Tris/HCl-Puffer pH 7,4 = 90 mmolar, Zellmembranen = durchschnittlich 0,3 mg Eiweiss/Ansatz; Endvolumen = 2,5 ml. - Nach 15 min Vorinkubation bei 20°C in Abwesenheit von ATP wurde durch Zusatz von ATP gestartet und 60 min bei 37°C inkubiert.

von Digitalis auf die Aktivität der Transport-ATPase des Herzmuskels zunehmend vermindert (Figur 2), was auf einer verstärkten Ausprägung des Kalium/Digitalis-Antagonismus⁶⁵ beruhen kann.

(7) Der Antagonismus von Kalium gegenüber der Digitaliswirkung auf die Kontraktilität des Herzens ist

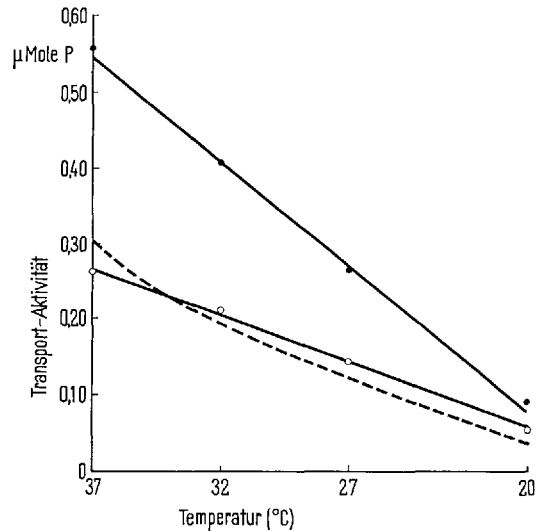


Fig. 2. Temperaturabhängigkeit der Aktivität der Transport-ATPase und der Hemmwirkung von Ouabain auf das Ferment. ●-● in Abwesenheit, ○-○ in Gegenwart von 1 μmolar Ouabain; --- Differenzkurve, die Digitalisempfindlichkeit des Ferments wiedergebend. Der nach der Kurve berechnete Q_{10} -Wert für das ungehemmte Ferment beträgt 3,8 zwischen 20° und 30°C und 2,1 zwischen 27° und 37°C. Weitere Angaben und Versuchsbedingungen in der Legende zur Figur 1.

⁴⁹ H. M. MALING und O. KRAYER, *J. Pharm. exp. Therap.* 86, 66 (1946).

⁵⁰ J. B. KAHN JR., *Fed. Proc.* 21, 149 (1962).

⁵¹ G. DALMA, *Helv. chim. Acta* 22, 1497 (1939).

⁵² S. GARB und M. B. CHENOWETH, *Amer. J. Physiol.* 156, 27 (1949).

⁵³ L. TARDOS, *Acta physiol. hung.* 7, 319 (1955).

⁵⁴ B. KATZUNG und A. FARAH, *Amer. J. Physiol.* 184, 557 (1956).

⁵⁵ H. F. MEYER und W. R. KUKOVETZ, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 242, 409 (1962).

⁵⁶ R. S. TUTTLE, P. N. WITT und A. FARAH, *J. Pharm. exp. Therap.* 137, 24 (1962).

⁵⁷ H. B. STEINBACH, in *Symposia of the Society for Experimental Biology*, Nr. VIII (Cambridge University Press, London 1954), p. 438.

⁵⁸ F. G. GOLLAN, G. RUDOLPH und N. S. OSLEN, *Amer. J. Physiol.* 189, 227 (1957).

⁵⁹ C. EDWARDS und E. J. HARRIS, *J. Physiol. (London)* 135, 567 (1957).

⁶⁰ R. D. KEYNES und R. C. SWAN, *J. Physiol. (London)* 147, 591 (1959).

⁶¹ H. FISCHER, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 135, 39 (1928).

⁶² M. TAESCHLER und H. WEIDMANN, *Helv. physiol. Acta* 16, C 81 (1957).

⁶³ P. R. SAUNDERS und P. N. SANYAL, *J. Pharm. exp. Therap.* 123, 161 (1958).

⁶⁴ H. F. HÄUSLER und M. WIELAND, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 242, 403 (1962).

⁶⁵ Unveröffentlichte Beobachtungen.

seit der ersten Beobachtung durch CLARK⁶⁶ und LOEWI⁶⁷ vielfach beschrieben worden (vgl. z. B. ⁶⁸⁻⁷⁰). Kalium antagonisiert gleichfalls die hemmende Wirkung von Digitalis auf den Ionentransport^{44, 71, 72} und die Transport-ATPase^{27, 45, 48}. Offenbar konkurrieren Digitalis und Kalium um den gleichen Bindungsort an der Aussenseite der Membran⁷³⁻⁷⁵.

(8) Rubidium setzt wie Kalium die Wirkung der Digitalis auf das Herz herab⁷⁶. Die Digitalishemmung sowohl des Ionentransports⁷⁷ wie der Transport-ATPase (Figur 3) wird durch Rubidium etwas stärker als durch Kalium antagonisiert.

(9) Natrium übt keinen Antagonismus auf die Digitaliseffekte aus. Eine Erhöhung der Na⁺-Konzentration von 139 auf 208 mmolar lässt die Digitaliswirkung auf die Kontraktilität unbeeinflusst⁸. Digitalis konkurriert nicht mit Natrium um dessen Transportort an der Innenseite der Membran⁷⁴ und bleibt daher nach intrazellulärer Injektion ohne Wirkung auf den Ionentransport⁷³. Steigerung der Na⁺-Konzentration von 70 bzw. 20 mmolar auf 135 mmolar begünstigt sogar die Digitaliswirkung auf die Kontraktilität⁸ und auf die Transport-ATPase (Tabelle II).

(10) Konzentrationsverminderung oder Fortlassen von Kalium aus dem Medium wirken sich auf die Kontraktilität wie therapeutisch oder toxisch wirksame Digitaliskonzentrationen aus (u. a. ^{9, 69, 78-81}). Verminderte Konzentration oder Abwesenheit von Kalium beeinflussen auch den Ionentransport^{57, 59, 69, 82} und die Transport-ATPase (Tabelle III) wie steigende Digitaliskonzentrationen.

(11) Nach Entfernen des extrazellulären Kaliums fehlt die Digitaliswirkung auf die Kontraktilität^{8, 69, 80}. Unter diesen Bedingungen fehlt auch ein aktiver Ionentransport^{57, 59, 82} und damit ein Angriffspunkt für Digitalis⁶⁻¹¹. Die ATPase-Aktivität der Zellmembran wird von Digitalis nicht beeinflusst, wenn Kalium aus dem System fortgelassen wird (Tabelle III).

(12) In mässigen Konzentrationen wirkt Calcium synergistisch mit Digitalis auf die Kontraktilität^{8, 66-68, 83}.

Tabelle II. Bedeutung der Na⁺-Konzentration für die Hemmung der Transport-ATPase durch Ouabain oder/und Calcium. Versuchsbedingungen: Mg⁺⁺ = 4 mmolar, K⁺ = 130 mmolar. Weitere Angaben in der Legende zur Figur 1

Ouabain μMol/l	Ca ⁺⁺ mMol/l	Na ⁺ (mMol/l)			
		20		135	
		μMol P	Hemmung %	μMol P	Hemmung %
-	-	0,21	-	0,60	-
1,0	-	0,13	38	0,30	50
-	0,5	0,06	71	0,40	33
-	1,0	0,00	100	0,26	57
1,0	1,0	0,00	100	0,12	80
-	10,0	0,00	100	0,06	90
1,0	10,0	0,00	100	0,06	90

Tabelle III. Ionale Vorbedingungen für eine Hemmwirkung von k-Strophanthosid auf die Transport-ATPase. Weitere Angaben und Versuchsbedingungen in der Legende zur Figur 1

k-Strophanthosid μMol/l	Na ⁺ mMol/l	K ⁺ mMol/l	Aktivität μMol P
-	-	-	0,30
100	-	-	0,30
-	135	-	0,33
10	135	-	0,32
-	-	5	0,30
10	-	5	0,30
-	135	1	0,74
-	135	5	1,10
1	135	5	0,70
100	135	5	0,30

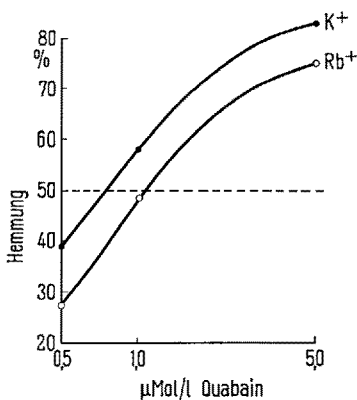


Fig. 3. Hemmung der Transport-ATPase durch Ouabain bei Ersatz von K⁺ durch Rb⁺ (jeweils 5 mmolar). Weitere Angaben und Versuchsbedingungen in der Legende zur Figur 1.

⁶⁶ A. J. CLARK, Proc. Roy. Soc. Med. 5, 181 (1912).
⁶⁷ O. LOEWI, Arch. exp. Path. Pharmacol. 82, 131 (1918).
⁶⁸ R. CAVIEZEL und W. WILBRANDT, Helv. physiol. Acta 16, 12 (1958).
⁶⁹ K. S. LEE, D. H. YU, D. I. LEE und R. BURSTEIN, J. Pharm. exp. Therap. 132, 139 (1961).
⁷⁰ W. C. HOLLAND und A. SEKUL, J. Pharm. exp. Therap. 133, 288 (1961).
⁷¹ A. K. SOLOMON, T. J. GILL und G. L. GOLD, J. gen. Physiol. 40, 327 (1956).
⁷² S. S. SCHREIBER, M. ORATZ und M. A. ROTHSCHILD, Amer. J. Physiol. 200, 1055 (1961).
⁷³ P. C. CALDWELL und R. D. KEYNES, J. Physiol. (London) 148, 8 P (1959).
⁷⁴ R. L. POST und C. D. ALBRIGHT, in Symposium on Membrane Transport and Metabolism (Ed. A. KLEINZELLER und A. KOTYK, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague 1961), p. 219.
⁷⁵ J. F. HOFFMANN, Fed. Proc. 21, 145 (1962).
⁷⁶ R. HAZARD, J. HAZARD und J. THOUVENOT, Arch. int. Pharmacodyn. 105, 33 (1956).
⁷⁷ J. B. KAHN JR., J. Pharm. exp. Therap. 136, 197 (1962).
⁷⁸ B. F. HOFFMAN, E. BINDER und E. F. SUCKLING, Amer. J. Physiol. 185, 95 (1956).
⁷⁹ R. NIEDERGERKE, J. Physiol. (London) 134, 569 (1956).
⁸⁰ J. LEE und J. W. WOODBURY, Fed. Proc. 17, 94 (1958).
⁸¹ R. CAVIEZEL, H. KOLLER und W. WILBRANDT, Helv. physiol. Acta 16, 22 (1958).
⁸² R. D. KEYNES, Proc. Roy. Soc. B 142, 359 (1954).
⁸³ H. HODITZ, Arch. exp. Path. Pharmacol. 243, 338 (1962).

Ein Synergismus zwischen Calcium und Digitalis wird auch am Ionentransport⁸⁴ und an der Transport-ATPase²⁷ gefunden.

(13) In hohen Konzentrationen unterdrückt Calcium die Digitaliseffekte auf Kontraktibilität^{8, 68, 69, 83}, Ionentransport⁸⁵ und Transport-ATPase (Tabelle II)²⁷.

(14) Eine vorübergehende Latenz ist charakteristisch für die Wirkung der Digitalis auf die Kontraktibilität^{86–89}. Auch die Hemmeffekte der Digitalis auf den Ionentransport^{90, 91} und die Transport-ATPase (Figur 4) erreichen erst allmählich ihren Höhepunkt.

(15) Calcium wirkt ähnlich wie Digitalis auf die Kontraktibilität^{66, 67}, jedoch im Gegensatz zu Digitalis setzt der Calciumeffekt ohne Latenz unmittelbar ein^{8, 86–89}. Calcium kann wie Digitalis den Ionentransport durch die Zellmembran des Muskels hemmen^{89, 92–95}. Der Effekt wurde jedoch von anderen Untersuchern nicht gesehen, offenbar, weil bei dem relativ hohen Ca^{++} -Gehalt der Muskelzelle der Hemmeffekt schon weitgehend vorweggenommen ist (vgl. Abschnitt 16). Am Erythrocyten mit normalerweise sehr niedriger intrazellulärer Ca^{++} -Konzentration lässt sich eine Hemmung des Ionentransports durch Calcium leicht zeigen^{84, 85, 96}. Nur intrazelluläres, aber nicht extrazelluläres Calcium wirkt hemmend auf den Transport durch die Membran^{85, 96}.

Calcium hemmt auch die Transport-ATPase der Zellmembran des Herzmuskels (Tabelle II). Charakteristischerweise tritt der Effekt ohne Latenz ein (Figur 4). Die Calciumhemmung wird durch Natrium (Tabelle II), aber nicht durch Kalium und Lithium⁶⁵ antagonisiert und kommt danach offenbar durch Besetzung des Transportorts des Natriums an der Innenseite der Membran durch Calcium zustande.

(16) Bei Muskelinaktivität entwickelt sich die Digitaliswirkung auf die Kontraktibilität, wenn überhaupt, dann nur langsam^{84, 70, 97–99}. Der aktive Ionentransport hat in der Muskelruhe nur einen kleinen Umfang¹⁰⁰. Die Ruhigstellung der Pumpe wird offenbar durch Calcium besorgt (vgl. ^{92–95, 100}). Bei der Calciumkonzentration, die für den Skelettmuskel als «frei» berechnet wird (= 1 mmolar)¹⁰¹, und bei der normal niedrigen intrazellulären Natriumkonzentration ist die Transport-ATPase inaktiv; liegt nur eine weitgehende Hemmung durch Calcium vor, wird das Ferment digitalis-resistent gefunden (Tabelle II)²⁷.

(17) Die Kontraktion startet kurz nach der Depolarisation und die Erschlaffung mit der Repolarisation der Membran; die Depolarisation ist mit einem Einstrom von Natrium-Ionen und die Repolarisation mit einem Austritt von Kalium-Ionen aus der Zelle verknüpft¹⁰². Vor einer neuen Kontraktion muss die ursprüngliche Ionenverteilung wiederhergestellt werden, was durch eine enorme Vergrößerung der Transportgeschwindigkeit erreicht wird¹⁰⁰. Die Leistung der Ionpumpe, die durch Calcium gedämpft ist (vgl. ^{92–95, 100}), wird in der Aktivität offenbar durch die einströmenden Natrium-

Ionen angefacht (vgl. ^{57, 60, 100, 103}). Eine Erhöhung der Na^{+} -Konzentration von dem intrazellulären auf den extrazellulären Wert, die in der Depolarisationsphase auf der Membran-Innenseite eintreten kann, steigert durch Verdrängung von Ca^{++} die Aktivität der Transport-ATPase um ein Vielfaches (Tabelle II) und beschleunigt dementsprechend den Rücktransport des eingetretenen Na^{+} . Mit zunehmender Erniedrigung der membran-nahen Na^{+} -Konzentration tritt Ca^{++} an den Transportort des Na^{+} und dadurch kehrt die ATPase in den Ruhezustand zurück.

Bei starker Verminderung der Na^{+} -Konzentration im Medium ist der Einstrom von Ca^{++} in die Muskelzelle beträchtlich gesteigert¹⁰⁴. Dies kann die unter

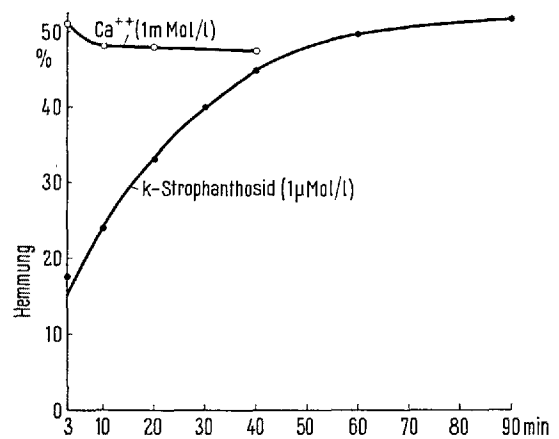


Fig. 4. Zeitlicher Verlauf der Hemmwirkung von 1 μ molar k-Strophanthosid bzw. 1 mmolar Calciumchlorid auf die Transport-ATPase. Weitere Angaben und Versuchsbedingungen in der Legende zur Figur 1.

⁸⁴ J. B. KAHN JR., *J. Pharm. exp. Therap.* **123**, 263 (1958).

⁸⁵ E. SEIFEN, W. RUMMEL und J. BALDAUF, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **243**, 349 (1962).

⁸⁶ H. FISCHER, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **130**, 194 (1928).

⁸⁷ W. NYIRI und L. DUBOIS, *J. Pharm. exp. Therap.* **39**, 111 (1930).

⁸⁸ W. T. SALTER, L. J. SCIARINI und J. GEMMEL, *J. Pharm. exp. Therap.* **96**, 372 (1949).

⁸⁹ M. REITER, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **267**, 158 (1958).

⁹⁰ B. RAYNER und M. WEATHERALL, *Brit. J. Pharm.* **12**, 371 (1957).

⁹¹ J. D. JUDAH, K. AHMED und A. E. M. McLEAN, *Nature (London)* **196**, 484 (1962).

⁹² W. C. HOLLAND, R. L. KLEIN und A. H. BRIGGS, *Amer. J. Physiol.* **196**, 478 (1959).

⁹³ R. L. KLEIN und W. C. HOLLAND, *Amer. J. Physiol.* **196**, 1292 (1959).

⁹⁴ S. E. SIMON, M. MULLER und D. G. SATCHELL, *Biochim. biophys. Acta* **60**, 126 (1962).

⁹⁵ G. GRUFF, *Fed. Proc.* **21**, 132 (1962).

⁹⁶ J. F. HOFFMAN, *Circulation* **26**, 1201 (1962).

⁹⁷ W. WILBRANDT, *Schweiz. med. Wschr.* **85**, 315 (1955).

⁹⁸ P. N. SANYAL und P. R. SAUNDERS, *J. Pharm. exp. Therap.* **122**, 499 (1958).

⁹⁹ M. VASSALLE, J. KARIS und B. F. HOFFMAN, *Amer. J. Physiol.* **203**, 433 (1962).

¹⁰⁰ J. W. WOODBURY, *Fed. Proc.* **22**, 31 (1963).

¹⁰¹ L. B. NANNINGA, *Biochim. biophys. Acta* **54**, 338 (1961).

¹⁰² S. WEIDMANN, *Amer. Heart J.* **61**, 298 (1961).

¹⁰³ L. J. MULLINS und A. S. FRUMENTO, *Fed. Proc.* **20**, 142 (1961).

¹⁰⁴ R. NIEDERGERKE und E. J. HARRIS, *Nature (London)* **179**, 1068 (1957).

diesen Bedingungen anzutreffende Förderung der Kontraktilität^{8, 105–107} erklären¹⁰⁸ und lässt – im Hinblick auf das Verhalten der Transport-ATPase – auch die zugleich vorhandene Hemmung des Ionen-transport^{33, 92, 93, 109} verstehen. Durch eine gleichartige Verschiebung des Na⁺/Ca⁺⁺-Verhältnisses wird nämlich das Ferment gehemmt (Tabelle II).

(18) Die positiv-inotrope Digitaliswirkung wird durch Verminderung der Na⁺-Konzentration im Medium auf 50% des Normalen praktisch eliminiert⁸. Die Digitalis-resistenz kann auf eine relative Vermehrung der Ca⁺⁺-Konzentration zurückgeführt werden⁸, da ja auch bei absoluter Vermehrung der Ca⁺⁺-Konzentration eine Digitaliswirkung auf die Kontraktilität vermisst wird^{8, 68, 69, 83}. Abwesenheit oder geringe Konzentration von Natrium eliminieren oder reduzieren auch den Hemmeffekt der Digitalis auf den Ionen-transport^{33, 109} und auf die Transport-ATPase (Tabelle II bzw. III)²⁷.

(19) Die therapeutisch wirksame Digitaliskonzentration im menschlichen Herzen liegt etwa zwischen 0,1–0,4 μ molar¹¹⁰. Positiv-inotrop wirksame Digitalisdosen hemmen den Ionen-transport durch die Zellmembran des Herzmuskels, jedoch wirkt sich dies erst bei voller Beanspruchung der Transportkapazität auf die Ionenbalance aus^{89, 112–114}. Die Transport-ATPase des Meerschweinchenherzens wird von 0,1–0,4 μ molar k-Strophanthosid zu 15–30% gehemmt (Figur 1). Das Herz des Menschen ist wahrscheinlich digitalisempfindlicher als das des Meerschweinchens, was auf einer entsprechend höheren Empfindlichkeit der Transport-ATPase beruhen kann (vgl. Abschnitt 2). Dann dürften die genannten, therapeutisch wirksamen Digitaliskonzentrationen die Transport-ATPase des menschlichen Herzens um mehr als 15–30%, aber jedenfalls nur partiell, hemmen.

Die untersuchte ATPase kann zu der kleinen Gruppe von Enzymen mit hoher Empfindlichkeit gegen bestimmte Arzneimittel gezählt werden, wie der folgende Vergleich zeigt. Die halbe Maximalhemmung des jeweiligen Ferments wird erzielt: mit 0,02 μ molar Diamox an der Carboanhydrase, mit 0,1 μ molar Disulfiram an der Aldehydoxydase (vgl. ¹¹⁵), mit 0,01 μ molar Eserin an der Cholinesterase¹¹⁶ und mit 0,15 μ molar Bufalin an der Transport-ATPase (Tabelle I)⁴⁸.

(20) Das System, das Na⁺ und K⁺ durch die Zellmembran des Herzmuskels transportiert, hat eine begrenzte Kapazität (Zahl der transportierten Ionen pro Einheit von Membranfläche und Zeit). Schon bei relativ geringfügigen Milieuänderungen (wie bei Isolierung, Durchströmung mit Salzlösungen, Reduktion der K⁺-Konzentration im Medium und Behandlung mit Narcoticis) kann die Ionenbilanz des Muskels, besonders bei höheren Kontraktionsfrequenzen, negativ werden^{112–114, 117, 118}. Unter mehr physiologischen Bedingungen ist die Kapazität aber doch so gross, dass auch bei beträchtlicher Verkürzung der Zeitintervalle zwischen zwei Kontraktionen das Gleichgewicht zwischen den passiven

und aktiven Ionenverschiebungen aufrechterhalten wird^{113, 114}.

Die Wirksamkeit von Digitalis wird innerhalb gewisser Grenzen von der Kontraktionsfrequenz des Herzens bestimmt. Diese Frequenzabhängigkeit kann mit dem Beanspruchungsgrad des Transportsystems in Verbindung gebracht werden. Entscheidend ist dann offenbar die Länge des Zeitintervalls, die zwischen zwei Kontraktionen für den Rücktransport von Na⁺ und K⁺ zur Verfügung steht; davon abhängig hat das Transportsystem eine mehr oder minder grosse Leistungsreserve. Bei niedriger Kontraktionsfrequenz (das heisst bei relativ grosser Leistungsreserve) werden verhältnismässig hohe Digitaliskonzentrationen benötigt, um eine positiv-inotrope Wirkung zu erzeugen. Dementsprechend entfalten niedrige Digitaliskonzentrationen nur bei relativ hoher Kontraktionsfrequenz (das heisst bei vergleichsweise geringer Leistungsreserve) eine Wirkung auf die Kontraktilität^{119–123}. In jedem Fall muss offenbar für das Zustandekommen einer positiv-inotropen Wirkung die Transportkapazität in Abhängigkeit von der jeweiligen Leistungsreserve um einen mehr oder minder grossen Betrag durch Digitalis verkleinert werden. Diese Kapazitätsverminderung führt unter therapeutisch wirksamen Digitaliskonzentrationen (die die Ionenbilanz bekanntlich noch nicht negativieren, vgl. z.B. ^{56, 124}) offenbar dazu, dass der Ionen-Rücktransport zwischen zwei Kontraktionen zwar noch vollständig, aber verlangsamt erfolgt. Die therapeutische Digitaliswirkung geht dann nach allem

¹⁰⁵ I. DE B. DALY und A. J. CLARK, *J. Physiol. (London)* 54, 367 (1921).

¹⁰⁶ W. WILBRANDT und H. KOLLER, *Helv. physiol. Acta* 6, 208 (1948).

¹⁰⁷ H. C. LÜTTGAU und R. NIEDERGERKE, *J. Physiol. (London)* 143, 486 (1958).

¹⁰⁸ S. WINEGRAD, *Circulation* 24, 523 (1961).

¹⁰⁹ P. WHITAM und J. S. WILLIS, *J. Physiol. (London)* 163, 45 P (1962).

¹¹⁰ Errechnet für eine intravenöse Dosis von 1,2 mg Digitoxin bzw. 1,6 mg Lanatosid C, von der etwa 1% bzw. 5% (vgl. ^{2, 111}) auf das Herz (200 g) entfallen.

¹¹¹ H. J. BRETSCHNEIDER, P. DOERING, W. EGER, G. HABERLAND, K. KOCHSIEK, H. MERCKER, F. SCHELER und G. SCHULZE, *Arch. exp. Path. Pharmak.* 244, 117 (1962).

¹¹² R. L. VICK und J. B. KAHN JR., *J. Pharm. exp. Therap.* 121, 389 (1957).

¹¹³ T. BROWN, G. GRUPP und G. H. ACHESON, *J. Pharm. exp. Therap.* 129, 42 (1960).

¹¹⁴ T. E. BROWN, G. H. ACHESON und G. GRUPP, *J. Pharm. exp. Therap.* 136, 107 (1962).

¹¹⁵ F. E. HUNTER JR. und O. H. LOWRY, *Pharm. Rev.* 8, 89 (1956).

¹¹⁶ R. AMMON, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 214, 678 (1926).

¹¹⁷ A. A. SEKUL und W. C. HOLLAND, *Amer. J. Physiol.* 197, 752 (1959).

¹¹⁸ H. L. CONN JR. und J. C. WOOD, *Amer. J. Physiol.* 197, 631 (1959).

¹¹⁹ W. v. WEIZSÄCKER, *Arch. exp. Path. Pharmak.* 72, 282 (1913).

¹²⁰ B. v. ISSEKUTZ, *Arch. exp. Path. Pharmak.* 78, 155 (1915).

¹²¹ P. N. SAUNDERS und P. R. SANYAL, *J. Pharm. exp. Therap.* 122, 499 (1958).

¹²² R. S. TUTTLE und A. FARAH, *J. Pharm. exp. Therap.* 135, 142 (1962).

¹²³ E. F. GERSMEYER und W. C. HOLLAND, *Klin. Wschr.* 41, 103 (1963).

¹²⁴ W. KLAUS, G. KUSCHINSKY und H. LÜLLMANN, *Arch. exp. Path. Pharmak.* 242, 480 (1962).

auf eine mässige Hemmung der Transport-ATPase zurück⁴⁸. Dieser Schluss kann zum Ausgangspunkt einer Hypothese über den Wirkungsmodus der Digitalis genommen werden (vgl. ^{29, 48}).

Der Ionen-transport und die Transport-ATPase sind nicht die einzigen Angriffspunkte der Digitalis. Neben den aktiven können passive Ionenverschiebungen durch eine Veränderung der Durchlässigkeit der Zellmembran beeinflusst werden. Aus Fluxmessungen^{44, 56, 125–128} oder elektrophysiologischen Beobachtungen^{80, 129} ist zu erschliessen, dass in Abhängigkeit von Digitaliskonzentration und Einwirkungszeit die K⁺-Permeabilität durch Digitalis sowohl erniedrigt^{44, 56, 80, 129} wie erhöht^{125–128} werden kann. In relativ hohen Konzentrationen kann Digitalis weiter die ATP-induzierte Kontraktion glycerinextrahierter Herzmuskelfasern mit intaktem Erschlaffungssystem verstärken¹³⁰, die Ca⁺⁺-akkumulierende ATPase der Erschlaffungsgrana aus Skelettmuskel in geringem Umfang hemmen¹³¹ und die oxydative Phosphorylierung von Herzmitochondrien schwach entkoppeln¹³². Schliesslich sind auch Digitaliswirkungen auf die kontraktile Eiweisse bekannt¹⁰.

Keiner der im vorangehenden Abschnitt erwähnten Angriffspunkte der Digitalis besitzt nach den bekannten Daten die von einem Digitalisrezeptor zu erwartenden Eigenschaften, auf die in den Abschnitten 1–20 die Transport-ATPase der Zellmembran geprüft wurde. Die Bedingungen, unter denen die Digitaliswirkungen auf die Kontraktilität, den Ionen-transport und die Transport-ATPase zustande kommen, zeigten sich auf den drei Ebenen in allen geprüften Beziehungen als übereinstimmend. Der Schluss scheint danach nicht unberechtigt, dass diese Ionenpumpen-ATPase mit einem Digitalis-Rezeptorenzym identisch ist.

Summary. The cell membrane of the cardiac muscle contains an adenosine-triphosphatase (ATPase) which effects the active transport of Na⁺ and K⁺ through the membrane and is sensitive to digitalis. The present paper aims at clarifying the possible identity of this transport-ATPase with a digitalis receptor enzyme. To this end, the conditions under which digitalis acts on the contractility, the active Na⁺/K⁺-transport and the transport-ATPase, are compared. Proceeding from the observations with the transport-ATPase, a re-interpretation of some known data on digitalis action and ionic transport is also offered. On the three levels there exist conformities or parallels regarding all digitalis characteristics examined (i.e. locus of action, species differences in effectiveness, structure/activity relations, ionic antagonisms and synergisms, ionic prerequisites of action, temporal development of effects, dependence on activity, influence of temperature and range of effective concentrations). The transport-ATPase of the cell membrane, therefore, appears to possess the features to be expected from a digitalis receptor enzyme.

¹²⁵ R. S. TUTTLE, P. N. WITT und A. FARAH, *J. Pharm. exp. Therap.* **133**, 281 (1961).

¹²⁶ H. J. SCHATZMANN und P. N. WITT, *J. Pharm. exp. Therap.* **112**, 501 (1954).

¹²⁷ P. N. WITT, *J. Pharm. exp. Therap.* **119**, 195 (1957).

¹²⁸ W. C. HOLLAND und R. L. KLEIN, *Fed. Proc.* **18**, 403 (1959).

¹²⁹ J. DUDEL und W. TRAUTWEIN, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **232**, 393 (1958).

¹³⁰ K. S. LEE, *J. Pharm. exp. Therap.* **132**, 149 (1961).

¹³¹ H. J. PORTIUS und K. REPKE, *Acta biol. med. germ.*, im Druck.

¹³² K. S. LEE, A. SCHWARTZ und R. BURSTEIN, *J. Pharm. exp. Therap.* **129**, 123 (1960).

Brèves communications – Kurze Mitteilungen – Brevi comunicazioni – Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Zentrifugale, efferente Einflüsse auf das Schwellen-ERG¹

Nach unseren bisherigen Kenntnissen ziehen efferente Fasern von höheren Zentren zur Netzhaut und entwickeln einen hemmenden Einfluss auf die Erregbarkeit der retinalen Neurone^{2–6}.

Unsere Versuche geben über das Mass der zentralen Hemmung Auskunft, welches unter bestimmten Versuchsbedingungen zu erheben ist.

Die Versuche wurden nach 24stündiger Dunkeladaptation an weissen und grauen Ratten durchgeführt. Noch notwendige Operationen erfolgten bei dämmrigem Rotlicht. Die Tiere wurden mit Flaxodil ruhiggestellt. Ein Auge wurde vernäht und mit lichtundurchlässigem Papier

bedeckt. Die Ableitung und Registrierung des ERG erfolgte in üblicher Weise. Die Reizung erfolgt über einen elektronisch gesteuerten Lichtstrahl einer Xenon-Hochdrucklampe, der nach Intensität und Dauer beliebig reguliert werden konnte.

Im Verlaufe der Experimente wurde zunächst für das nicht abgedeckte Auge (Oculus primus, O.I.) die Reiz-

¹ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

² S. RAMON Y CAJAL, *Die Retina der Wirbeltiere* (Bergmann-Verlag, Wiesbaden 1894).

³ H. W. MÜLLER-LIMMROTH, *Z. Biol.* **107**, 216 (1954).

⁴ J. H. JACOBSEN, *Arch. Ophthalmol.* **67**, 791 (1962).

⁵ R. GRANIT, *J. Neurophysiol.* **18**, 388 (1955).

⁶ E. DODT, *J. Neurophysiol.* **19**, 301 (1956).