

**ANALYTISCHE MIKROMETHODE ZUR
FLUORIMETRISCHEN BESTIMMUNG VON MONOAMINEN
UNTER VERWENDUNG EINER TOPOGRAPHISCH
STANDARDISIERTEN EXZISIONSTECHNIK
FÜR RATTEN – UND MÄUSEGHIRN**

ABHANDLUNG

zur Erlangung

des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN

HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

MARGRET SCHLUMPF

Eidg. Dipl. Apothekerin, ETH Zürich

geboren am 5. April 1939

in Steinhausen/Zug

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. P. G. Waser, Referent

Prof. Dr. X. Perlia, Korreferent

aku-Fotodruck

Zürich

1973

4323 Diskussion der quantitativen Spektralanalyse

Noradrenalin und Dopaminbefunde nach akuter Morphindosis von 40 mg/kg

Nach einer akuten Dosis Morphin von 40 mg/kg konnte übereinstimmend mit den Befunden von Takagi und Nakama (1966) ein Dopaminabfall im Nervenzellgebiet der Substantia nigra und im N. caudat. putamen nachgewiesen werden. (Abb. 18). Die Werte für Noradrenalin zeigen eine grosse Streuung (Dopaminhaltiges Nervenzellgebiet). Der Dopaminabfall in der Substantia nigra ist signifikant; (nach Wilcoxon $p < 0,01$) der Aminabfall im Endigungsgebiet ist geringer, aber eine Tendenz lässt sich erkennen.

Diese Befunde zeigen, dass quantitative Spektraluntersuchungen an Extrakten kleiner Hirngewebsmengen möglich sind. Gegenüber Messungen bei fixierter Exzitations- und Emissionswellenlängen hat dieses Verfahren vor allem 2 Vorteile:

1. Identifizierung und Quantifizierung des Neurotransmitters in einem analytischen Schritt.
2. Ergeben sich aus irgend welchen Gründen spektrale Verschiebungen im Emissions- und Exzitationspektrum der Gewebewerte gegenüber den rein wässrigen Standards, so sind solche nur mit dieser analytischen Technik überhaupt erkennbar und können beschrieben und allenfalls einem bestimmten Hirngebiet oder einem Funktionszustand zugeordnet werden. Mit der heute üblichen fluorimetrischen Messung bei konstanter Anregung und Emission werden solche Veränderungen notwendigerweise übersehen. Verschiebungen der Emissions- oder Exzitationsmaxima können durch verschiedene Fremdeinflüsse im Extrakt verursacht werden. Denkbar ist auch eine Störung durch einen vorhandenen Metaboliten oder durch eine Vorstufe des Amins.

Interessant ist die Tatsache, dass bei Spektralaufnahmen des Ganzhirns oder grösserer Teile des Hirns von Mäusen und Ratten keine Verschiebungen der Emissionsmaxima beobachtet werden konnten. Das gleiche gilt für Spektralanalysen der Amine spezifischer zentraler Nuclei des Rattenhirns mit Ausnahme

der analog dem Mäusehirn auftretenden Verschiebung des spektralen Maximums von Dopamin in der Substantia nigra der Ratte. Auch in der Literatur fehlen Hinweise auf spektrale Verschiebungen aus Geweben des Zentralnervensystems. In biochemischen Befunden wurde einzig bei Spektralaufnahmen von Normetanephrin und Metanephrin aus dem Urin von Ratten auf Veränderungen der Emissionsmaxima hingewiesen. Eine nicht näher identifizierte mitextrahierte Substanz aus dem Urin wird als Ursache der Emissionsverschiebung angenommen. (Anton und Sayre, 1966). Bei der Maus fanden sich im Gegensatz zur Ratte Spektralverschiebungen in mehreren Hirngebieten. Es ist anzunehmen, dass diese Differenzen durch neurochemische Speziesunterschiede bedingt sind, wobei an Unterschiede im Aminmetabolismus, aber auch an Unterschiede in anderen Stoffgruppen zu denken ist.

Die Analytik dieser interferierenden Substanzen in der minimalen Gewebemenge der mikroanalytischen Technik dürfte mit einigen Schwierigkeiten verbunden sein. Dünnschichtchromatographische oder mikroelektrophoretische Trennung eventuell in Kombination sind als analytische Abklärungsversuche denkbar.

Unterschiedliche Ergebnisse der histochemischen und biochemischen Befunde, wie z.B. nach akuter Morphinverabreichung, können als weiterer Ausgangspunkt für eine feinere Analyse der aminhaltigen Systeme betrachtet werden. Wie weit der in der histochemischen Methodik beobachtete starke initiale Intensitätsanstieg Veränderungen chemisch-physikalischer Eigenschaften zuzuschreiben ist oder durch eine Interferenz von Vorstufen desamins (allenfalls Metaboliten) zustande kommt, bleibt abzuklären. Ganz ähnliche Probleme stellen sich im Hinblick auf mitextrahierte Substanzen in der biochemischen Methodik. Hier könnte allenfalls die Gesamtintensität vermindert werden.

Mittels der quantitativen Spektralanalyse, d.h. der qualitativen und quantitativen Erfassung der Amine in spezifischen Gebieten des ZNS, könnten somit bei der Aminbestimmung bisher unbeachtet gebliebene Einflüsse aufgedeckt und der Abklärung durch neue weitgehend differenzierte analytische Techniken zugänglich gemacht werden.