Lab.med. 10: 31–44 (1986)

Bestimmung der freien und konjugierten Katecholamine mit HPLC und amperometrischer Detektion

H. Weicker
Abt. für Pathophysiologie und Sportmedizin der Universität Heidelberg

Zusammenfassung:

Freie und konjugierte Katecholamine wurden mit der high-performance-liquid-Chromatographie (HPLC) unter Verwendung der amperometrischen Detektion in Serum und Liquor nach Al_2O_3-Adsorption und im Urin nach Anionen-Austauscheradsorption an Biorex 70 in Ruhe, bei verschiedenen Ergometerbelastungen in horizontaler und vertikaler Körperposition, nach Orthostasereaktion und in Feldbelastungen bestimmt. Die Reproduzierbarkeit der freien Katecholamine war mit einem VC von 5–10% und einer Wiederfindungsrate von 70–75% befriedigend. Nach enzymatischer Hydrolyse fanden wir bei den konjugierten Katecholaminen die gleiche Reproduzierbarkeit und Wiederfindungsrate wie bei den freien, jedoch war nach Säurehydrolyse die Wiederfindungsrate um 30% niedriger. Der Anstieg der Katecholamine im Serum ist weniger von der Belastungsdauer als von der -intensität abhängig und wird jedoch auch von unterschiedlichen Körperpositionen beeinflußt. Dies gilt besonders für Noradrenalin, das bei vertikaler Position stärker ansteigt als in horizontaler. Die belastungsabhängigen Veränderungen von Noradrenalin und Adrenalin konnten bei Dopamin nicht festgestellt werden. Die konjugierten Katecholamine stiegen nach Belastung weniger stark an als die freien. Der Quotient konjugiert/freien Katecholaminen ist aussagekräftiger als die Werte der konjugierten Katecholamine allein und zeigt eine Reduktion unter Belastung und einen Anstieg in der Erholungsphase. Die gute Korrelation der freien Katecholamine zu einigen hämodynamischen und metabolischen Parametern konnte bei den konjugierten und ihrem Quotienten konjugiert/freien Katecholaminen nicht gefunden werden. Im Urin war der Quotient der konjugiert/freien Katecholamine niedriger als im Serum und fiel nach Belastung weiter ab. Im Liquor waren die Konjugationraten ebenfalls niedriger als im Serum. Mit synthetischem 4-0-Dopamin-Sulfat konnte gezeigt werden, daß durch die Konjugate keine Rezeptorstimulation ausgelöst werden kann.

Schlüsselwörter:

Freie/konjugierte Katecholamine – Ergometerbelastung – Orthostase – Ausdauerbelastung – Rezeptoraffinität

Summary:

The determination of free and conjugated catecholamines was carried out by high-performance-liquid-chromatography (HPLC) with amperometric detection in serum and liquor after Al_2O_3-adsorption and in urine after anion-exchange-adsorption on biorex 70. The studies were performed at rest, in various ergometer tests in horizontal and vertical body position, after orthostatic reaction and in field tests. The reproducibility of the free catecholamines was satisfactory with a VC of 5–10% and a recovery rate of 70–75%. In conjugated catecholamines we found the same reproducibility and recovery rate as in free catecholamines using the enzymatic hydrolysis. After acid hydrolysis the recovery rate, however, became lower for 30%. The increase of catecholamines in serum is less dependent on duration than on intensity and will be influenced by different positions as well. This is especially shown in norepinephrine that amounts higher in vertical than in horizontal position. In case of dopamine we found no changes depending on duration or intensity as in norepinephrine or epinephrine. The conjugated catecholamines increase less during work than the free catecholamines. The quotient conjugated/free catecholamines is more conclusive but the rates of conjugated catecholamines only and shows a reduction during exercise and an increase in the recovery period. The good correlation of free catecholamines to some hemodynamic and metabolic parameters could not be found in the conjugated catecholamines and their quotient conjugated/free catecholamines, too. This quotient of conjugated/free catecholamines was lower in urine than in serum and is still decreasing during work. The conjugation rates in liquor were also lower than in serum. Synthesized 4-0-dopaminesulfate did not stimulate adrenoreceptors.

Keywords:

Free/conjugated catecholamines – ergometer tests – orthostatic reaction – field tests

Einleitung

Die high-performance-liquid-Chromatographie mit amperometrischer Detektion (HPLC) stellt eine methodische Bereicherung für die Katecholaminbestimmung im Serum, Liquor und Urin dar. Ihre Reproduzierbarkeit und Reliability ist den Radioenzymassays mit einfacher und doppelter Isotopenmarkierung gleichzusetzen (11, 13). Im Hinblick auf die zeit- und kostensparende Durchführung, die einen täglichen Probendurchsatz von 50–60 Proben erlaubt, ist sie den Radioenzymassays jedoch überlegen. Früher angewandte Katecholaminbestimmungen, wie Fluorometrie ohne vorausgehende HPLC-Trennung, sind für den Nachweis im pmol-Bereich, in dem die Katecholamine im Serum und Liquor vorliegen, zu unempfindlich (14, 15, 17). Gaschromatographische Trennungen der Katecholamine sind bis jetzt nur im Urin durchgeführt worden und geben nur in Kombination mit der NMR-Spektroskopie verläßliche Werte (29). Die Ermittlung verbindlicher Ruhewerte, Kinetiken und Untersuchungen bei körperlicher und emotionaler Belastung unterschiedlicher Dauer und Intensität führt zu Ergebnissen, die für die Charakterisierung der sympathoadrenergen Regulation cardiozirkulatorischer, ventilatorischer und metabolischer Funktionen sowie der Wechselwirkung mit anderen stoffwechselregulierenden Hormonen neue Aspekte ergaben.

In der adrenergen Steuerung wurde bis jetzt die Bedeutung der konjugierten Katecholamine allgemein vernachlässigt. Da neuere Untersuchungen von Buu (5, 26), Joyce et al. (21, 22), Nagel et al. (24) zeigen konnten, daß etwa 60–90% der Gesamtkatecholamine in konjugierter Form vorliegen, ist anzunehmen, daß diese Konjugate auch von physiologisch-funktioneller Bedeutung sind, über die bis heute jedoch nur wenig bekannt ist (23). Dem experimentellen Nachweis sowohl der freien als auch der konjugierten Katecholamine im Serum, Urin und Liquor möchte ich kurz das vorausschicken, was man über die Sulfokonjugate bereits weiß.

Beim Menschen überwiegt die mit Sulfatgruppen konjugierte Verbindung mit 90–95%. Lediglich 5–10% sind mit Glucuronsäure konjugiert, die hingegen bei manchen Tierspezies überwiegt (26). Die Katecholaminkonjugation erfolgt durch die Phenolsulfotransferase (PST), die in zahlreichen Organen wie Leber, Gehirn, Darmmucosa aber auch in den Thrombozyten und Erythrozyten vorkommt (3, 6, 12, 16, 17, 20). Da Sulfatgruppen sowohl in der 4- als auch in der 3-0-Position mit Katecholaminen gebunden werden, ist nicht auszuschließen, daß PST unterschiedliche Enzymspezifität besitzt. Die Sulfatgruppen werden von dem Phosphoadenosinphosphosulfat (PAPS) geliefert (19, 25). Die 4-0-Konjugation kann von Sulfatasen, die ebenfalls in zahlreichen Organen wie Leber, Niere, Gehirn aber auch im Muskel vorkommen, enzymatisch hydrolisiert werden, um danach mit den Adrenorezeptoren zu reagieren oder zu den entsprechenden Metaboliten verstoffwechselt zu werden. Die 3-0-Sulfokonjugate hingegen sollen nicht durch Sulfatase gespalten werden und sind somit auch nicht metabolisierbar (19). Diese Annahme ist jedoch noch nicht experimentell eindeutig bewiesen. Buu et al. (7, 8) fanden, daß neben der spezifischen Dekonjugation durch Sulfatasen auch Dopamin-β-Hydroxylase (DBH) aus 4-0-Dopamin-Sulfat Dopamin freisetzen kann. Anschließend wird das Dopamin durch DBH enzymatisch zu Noradrenalin metabolisiert. Dies könnte erklären, daß wir praktisch keine Systematik der Dopamin-Konzentration in Abhängigkeit von Belastungen fanden. Dieser Befund sollte auch in der quantitativen Bewertung des Serum-Noradrenalin-Spiegels berücksichtigt werden, der bei hoher DBH-Aktivität unabhängig von der Sekretionsrate ansteigen kann.

Die Katecholamine des Nebennierenmarkes, die im Verhältnis Adrenalin zu Noradrenalin von etwa 8:1 vorliegen, werden, obwohl PST im Nebennierenmark vorkommt, nicht konjugiert, da PAPS als Sulfatgruppendonator fehlt oder stark reduziert ist (25). Dieser Befund ist für die Differentialdiagnose des Phäochromozytoms wichtig, da man bei dieser Erkrankung einen sehr niedrigen Quotienten von konjugierten/freien Katecholaminen findet; ein Befund, der in der Differenzierung von Katecholaminerhöhungen im Serum bei Ruhe wertvoll sein kann. Für die Sofortregulation besonders im kardiozirkulatorischen System, sowohl bei der Stabilisierung der venösen Compliance als auch der arbeitsabhängigen arteriellen Blutumverteilung sind die Katecholamine, vor allem Noradrenalin, das aus den sympathischen Nervenendigungen freigesetzt wird, besonders wichtig. In den sympathoadrenergen Synapsen, vorwiegend im Gehirn, werden Katecholamine von der präsynaptischen Membran nach Release aus den präsynaptischen Vesikeln in den synaptischen Spalt ausgeschieden. Ein geringer Teil wird in der Präsynapse metabolisiert. Dopamin ist hierbei der wichtigste zerebrale Neurotransmitter, der dann, wenn er nicht an die Rezeptoren der postsynaptischen Membran gebunden wurde, metabolisiert oder mit Sulfat konjugiert wird, da PAPS und PST reichlich im Gehirn vorkommen (6, 9, 10). Aus diesen können die Katecholamine durch Sulfatasen wieder freigesetzt werden, so daß ohne Neusekretion freie Katecholamine für die Rezeptoren-Interaktion zur Verfügung stehen. Eine überschießende Rezeptorenstimulation bei inadäquater Katecholaminsekretion wird durch die Konjugation verhindert, da die Konjugate keine Affinität zu den Adrenorezeptoren haben und auch nicht auf der Postrezeptorenebene wirksam werden. Die präsynaptische Sekretion wird durch die Rezeptoren α_2 oder D_2 gesteuert. An der postsynaptischen Membran sollen zwischen den spezifischen Adrenorezeptoren, die die zyklische AMP stimulieren, auch Interaktionen zu einem Rezeptor bestehen, der für den Ionenflux verantwortlich ist (Abb. 1).

Methodik

Da über die Funktion der sulfatierten Katecholamine bis jetzt nur wenig bekannt ist, haben wir bei unterschiedlicher adrenerger Stimulation, wie sie bei Orthostase, Ergometerbelastungen und bei Feldstudien stattfindet, die konjugierten und freien Katecholamine untersucht. Die Bestimmung der freien Katecholamine im Serum, Urin und Liquor soll nur kurz dargestellt werden, da sie bereits im Detail publiziert wurde (27). Hingegen wird auf die Methode zum Nachweis der konjugierten Katecholamine ausführlicher eingegangen.

Der Nachweis durch amperometrische Detektion ist für Dopamin empfindlicher als durch Fluorometrie. Die fluorometrische Detektion von Noradrenalin und Adrenalin ist etwas empfindlicher, jedoch ist die Differenz zur amperometrischen so gering, daß sie nicht den Nachteil der zusätzlichen Derivatisierung aufwiegt (18).

Gut reproduzierbare Resultate mit Variationskoeffizienten zwischen 5–10% und Wiederfindungsraten von 70–75% für freie Katecholamine erhält man bei der AL_2O_3-Adsorption, wenn diese optimal vorbereitet wurde, und die Adsorption durch Schütteln über Kopf und die De-

sorption mit $HClO_4$ vertikal vorgenommen wird. AL_2O_3-Verunreinigungen in dem Desorbat, die zur Verstopfung der Säulen führen können, werden durch Zentrifugation bei 10000 xg mit nachfolgender Filtration durch ein Teflonmembranfilter 0,4 µm im Zentrifugationsverfahren weitgehend eliminiert. Die amperometrische Detektion ist nicht nur von der Carbonglaselektrode sondern auch von der $Ag/AgCl_2$-Gegenelektrode abhängig, die häufiger gewechselt werden muß. Bei dem neuen Detektor der Firma Waters, der etwa eine Zehnerpotenz empfindlicher ist, kann diese Regeneration der Gegenelektrode jedoch in größeren Abständen vorgenommen werden. Bei unruhiger Grundlinie ist die Reinigung des Pumpensystems u.U. sehr hilfreich. Bei Serienuntersuchungen werden Störungen öfters durch das Fluidpackage des Wisp ausgelöst. Für gute Kurvenzeichnung ist eine Entstörung des Stromnetzes durch ein vorgeschaltetes Filtersystem empfehlenswert.

Die Proben werden nach 20 min Ruhe bei liegender Verweilkanüle entnommen. Nikotin, Koffein und emotionale Belastung erhöhen die Schwankungen der Ruhewerte. Kinder haben etwas höhere Katecholamin-Serum-Werte; im mittleren Lebensalter fanden wir keine signifikanten Geschlechtsunterschiede. Bei älteren Menschen über 60 Jahre waren die Katecholaminwerte für Männer etwas höher. Orthostase und körperliche Belastung beeinflussen vor allem Noradrenalin.

Die bessere Wiederfindungsrate bei den Extraktionsmethoden, die um 90% liegen sollen, werden dadurch ausgeglichen, daß man bei der Al_2O_3-Adsorption mit einer Wiederfindungsrate vom 70–75% ein Nullserum mit einer definierten Zugabe von Katecholaminen und DHBA als interner Standard während des gesamten Versuchsablaufes mitführt und diese Standardwerte zur Kalibrierung verwendet.

Zur Aufarbeitung der Urinkatecholamine ist die Adsorption an einer Anionen-Austauschersäule Biorex 70 200–400 Mesh Na^+ mit anschließender Elution durch Borsäure günstiger als die Al_2O_3-Adsorption und Desorption mit $HClO_4$.

Sulfatierte Katecholamine

Die sulfatierten Katecholamine werden aus den gleichen Proben bestimmt, aus denen auch die freien Katecholamine ermittelt wurden. Das Blut wird nach Ruhe bei liegender Kanüle in einen Vakutainer gegeben, in dem 5 pg EGTA und 9 pg Glutathion vorgelegt sind. Anschließend wird der Vakutainer bei 2000×g und +4°C zentrifugiert. Der Überstand wird bei −20° C bis zum Gebrauch aufbewahrt. Wenn die Weiterverarbeitung nicht innerhalb von 3 Wochen stattfindet, ist die Aufbewahrung bei −70°C zu empfehlen.

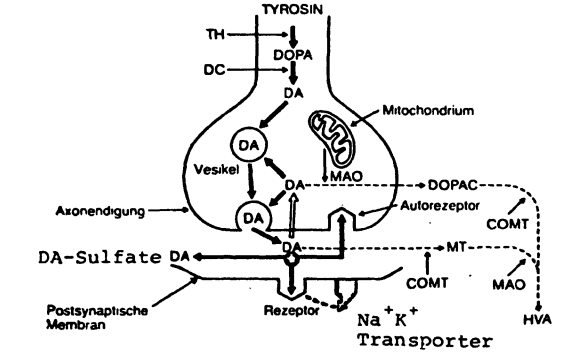
Säurehydrolyse mit $HClO_4$

Von 1 ml Serum, das mit 2 mol/l Trispuffer auf pH 8,7 eingestellt wurde, werden die freien Katecholamine komplett an Al_2O_3 adsorbiert. Zu 1 ml des Überstandes werden 2 ml 0,6 mol/l $HClO_4$ hinzugegeben, die 5 mmol/l EDTA enthalten. Nach Zentrifugation bei 9000 g wird der enteiweißte $HClO_4$-Überstand 20 min bei 95°C hydrolysiert und sofort im Eisbad gekühlt. Ungefähr 5 ml 2 mol/l Trispuffer werden hinzugegeben und das pH auf 8,7 eingestellt. Die aus den Konjugaten freigesetzten Katecholamine werden dann an 10 mg Al_2O_3 adsorbiert. Der Rückstand wird 3mal mit 0,5 ml eines 0,2%igen Trispuffers pH 8,7 gewaschen, und anschließend werden die Katecholamine mit 100 µl 0,1 mol/l $HClO_4$ desorbiert.

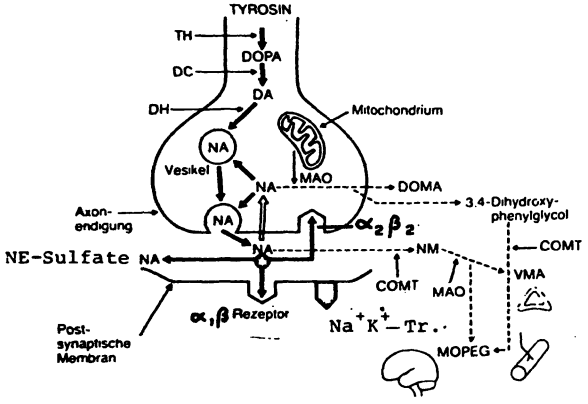
Enzymatische Hydrolyse mit Arylsulfatase Typ VI Sigma

Zu 300 ml Serum werden 200 µl 0,02 mol/l Trispuffer pH 7,4 und 10 µl Arylsulfatase Typ VI (160 µU) zugegeben. Danach wird bei 37°C 1 h inkubiert und anschließend sofort gekühlt und mit 2 mol/l Trispuffer auf pH 8,7 eingestellt. Die Adsorption an Al_2O_3 und die Desorption mit $HClO_4$ wird entsprechend der Säurehydrolyse durchgeführt. Die Katecholaminbestimmung erfolgt mit der üblichen HPLC-Technik. Die konjugierten Katecholamine im Urin werden aus dem Sammelurin, eingestellt auf pH 3, bestimmt. Ein Aliquot von 5 ml wird mit 15 ml EDTA ver-

Dopamin Neurotransmitter



Noradrenalin Neurotransmitter



Sympathische Nervenendigungen

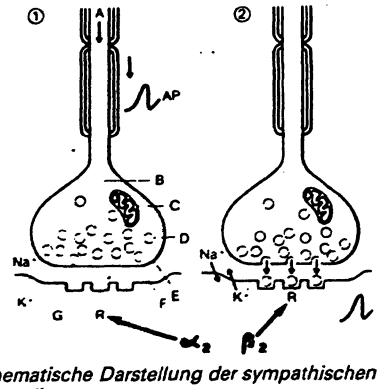


Abb. 1: Schematische Darstellung der sympathischen Synapsen und Nervenendigungen

setzt und mit Natronlauge auf pH 6,5 eingestellt. Das gesamte Volumen wird auf eine Biorex 70 Anionenaustauschersäule 200–300 Mesh Na^+ gegeben. Von dem Eluat werden 50 µl für die enzymatische und 500 µl für die Säurehydrolyse verwendet, die entsprechend der Vorschrift im Serum durchgeführt wird. Die von Arakawa (1) beschriebene Darstellung der konjugierten Urinkatecholamine mit der Fluorometrie erfordert jedoch im Anschluß an die HPLC-Trennung noch eine Derivatisierung zum fluorometrischen Nachweis.

Die konjugierten Katecholamine des Liquors werden entsprechend den Serumproben behandelt. Reagentien und HPLC-Ausrüstung wurden im Detail bereits früher beschrieben (27).

Die enzymatische Hydrolyse mit Arylsulfatase Typ VI zeigte Variationskoeffizienten zwischen 7 und 12% für alle drei Katecholamine und entsprach der Reproduzierbarkeit, die wir bei den freien Katecholaminen gefunden hatten (Tab. 1). Auch die Wiederfindungsrate von 60–70% war vergleichbar. Hingegen war sie bei der Säurehydrolyse mit $HClO_4$, bei der ein Teil der freigesetzten Katecholamine zerstört wird, mit 30–40% geringer, obwohl die Variationskoeffizienten nicht höher lagen als bei der enzymatischen Hydrolyse. Da wir die freien Katecholamine und das synthetisierte 4-0-Dopaminsulfat unter den gleichen Bedingungen hydrolysierten, konnte die Verlustrate ermittelt und durch einen Faktor korrigiert werden. Bei der Hydrolyse mit Sulfatase müssen die freien Katecholamine, die gemeinsam mit den freigesetzten an Al_2O_3 adsorbiert werden, von dem Gesamtwert subtrahiert werden. Die mit 4-0-Dopaminsulfat nach enzymatischer und Säurehydrolyse ermittelten Eichkurven waren linear und gingen durch den Nullpunkt (Abb. 2). Die Bestimmung der konjugierten Katecholamine ist technisch einfach und stellt eine sinnvolle Ergänzung zur Ermittlung der freien dar.

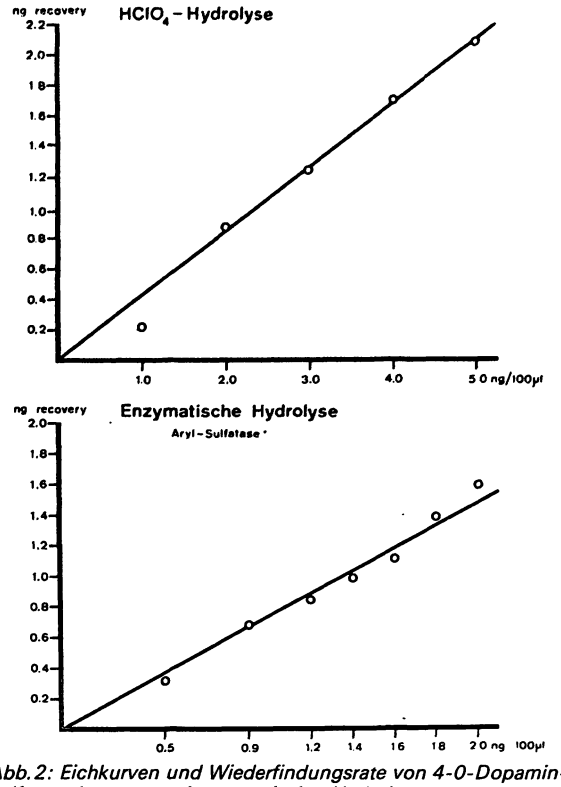


Abb. 2: Eichkurven und Wiederfindungsrate von 4-0-Dopaminsulfat nach saurer und enzymatischer Hydrolyse

Ergebnisse und Diskussion

Das Verhalten der konjugierten Serumkatecholamine wurde im Vergleich zu den freien in Ruhe, bei Orthostasereaktion, bei unterschiedlicher Belastung auf dem Ergometer in der vertikalen und horizontalen Körperposition sowie bei Langlaufbelastung über 10000 m untersucht. Im Urin wurden die Werte vor und nach Belastung verglichen und im Liquor bei Patienten, bei denen aus diagnostischen Gründen eine Lumbalpunktion erforderlich war, bestimmt. Bei Patienten mit Phäochromozytom wurde der Quotient der konjugierten/freien Katecholamine sowohl im venös-peripheren Blut als auch nach Venenkatheterisierung und Etagenabnahme ermittelt.

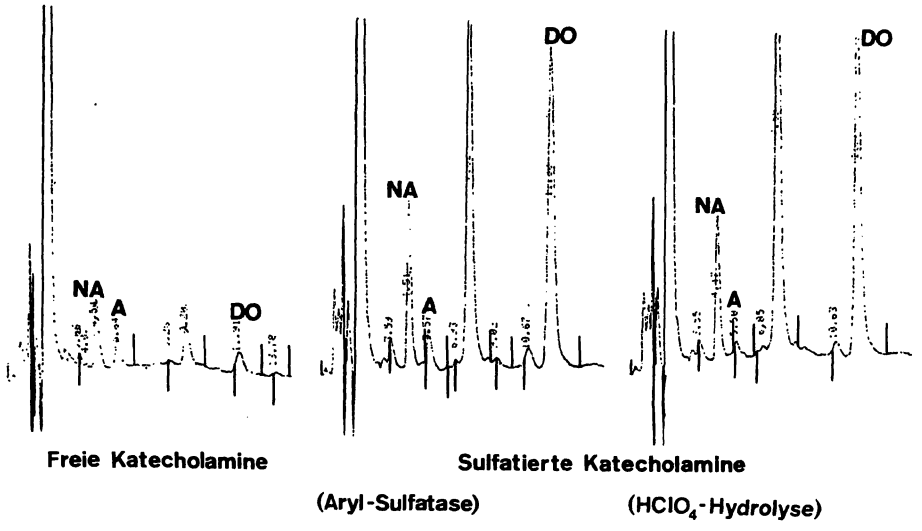
Aus Abb. 3 sind die Diagramme der HPLC-Trennung, der freien und der konjugierten Katecholamine des Serums nach enzymatischer und Säurehydrolyse zu ersehen. Hieraus ist zu erkennen, daß der konjugierte Anteil erheblich höher liegt als der freie. In Tab. 2 sind die Werte der freien Katecholamine und der prozentuale Anteil der konjugierten an den Gesamtkatecholaminen dargestellt, die nach Säurehydrolyse mit dem Radioenzymassay (11) ermittelt worden waren (2, 4). Wir konnten im wesentlichen diese Resultate bestätigen, fanden allerdings für Dopamin mit 90% etwas niedrigere Werte. Der prozentuale Anteil der Katecholamine, ermittelt mit der enzymatischen Hydrolyse durch Arylsulfatase, lag etwas niedriger als nach Säurehydrolyse. Diese Differenz könnte dadurch bedingt sein, daß Sulfatasen nur die 4-0-Katecholaminkonjugate aufspalten, wohingegen mit Säure sowohl die 3-0- und die 4-0-Sulfokonjugate hydrolysiert werden.

Tab. 1: Mittelwerte, Standardabweichungen, Abweichungskoeffizient und Erholungsphase bei konjugierten Katecholaminen

		Noradrenalin				Adrenalin				Dopamin			
	n	x̄	SD	CV%	RC%	x̄	SD	CV%	RC%	x̄	SD	CV%	RC%
Hydrolyse 0,6 mmol/l $HClO_4$	12a	20,89	1,96	9,4	30–40	53,37	4,95	9,4	30–40	158,23	8,22	5,2	30–40
	12b	14,38	1,06	7,4	30–35	16,23	1,84	11,3	30–40	44,75	5,22	11,2	30–40
Aryl-sulfatase	12a	12,14	0,50	4,1	60–70	20,81	1,29	6,3	60–70	78,52	3,87	4,9	60–70
	12b	2,32	0,16	6,9	60–70	4,01	0,52	12,9	60–70	9,44	0,73	7,7	60–70

Mittelwerte, Standardabweichungen, Abweichungskoeffizient und Erholungsphase bei hohen (a) und niedrigen (b) Dosen von konjugierten Katecholaminen.
x̄ = Mittelwerte, SD = Standardabweichung, CV = Abweichungskoeffizient, RC = Wiederfindungsrate

Abb. 3: Kurvenverlauf der freien Katecholamine und der konjugierten nach Sulfatasebehandlung und Säurehydrolyse im Serum



Gegenüber dem freien Noradrenalin und Adrenalin sind die Streubreiten der Ruhe-Werte bei den konjugierten Katecholaminen größer.

Aus Abb. 4, 5 und 6 ist zu erkennen, daß bei unterschiedlicher Belastungsdauer und -intensität während verschiedener Ergometertechniken freies Noradrenalin und Adrenalin, obwohl sie individuelle Schwankungen erkennen lassen, den gleichen belastungsabhängigen Trend zeigen. Bei Dopamin hingegen ist keine belastungsabhängige Systematik nachweisbar. Dies dürfte nicht nur an der unterschiedlichen Sekretionsdynamik liegen, sondern könnte auch von der enzymatischen Einwirkung der Dopamin-β-Hydroxylase (DBH), die nicht nur für die Umwandlung von Dopamin zu Noradrenalin verantwortlich ist, sondern auch Dopaminsulfat dekonjugieren kann, abhängen (Buu et al., 7).

Orthostase

Die Orthostase, die physiologischerweise bei Lageänderung von der horizontalen in die vertikale Position auftritt, löst einen α_2-adrenergen Impuls aus, der die venöse Compliance an die aufrechte Körperposition anpaßt und somit die subjektive und objektive Orthostasesymptomatik bei kreislaufstabilen Menschen reduziert.

In Kipptischversuchen wurde bei 12 gesunden Studenten im Alter zwischen 22 und 28 Jahren diese Regulation nach 20 min Liegen durch plötzliches Aufrichten des Kipptisches in die vertikale Position für 10 min und anschließend Rückverlagerung in die Horizontale untersucht. Abb. 7 zeigt, daß beim Stehen Noradrenalin signifikant anstieg und nach 30 min in der anschließenden liegenden Position die Ausgangswerte wieder erreichte. Die systolischen Blutdruck- und Dikrotiewerte fielen ab. Die Herzfrequenz stieg an. Im Gegensatz zu der signifikanten Noradrenalin-Konzentrationszunahme war keine signifikante Veränderung bei Adrenalin zu beobachten. Ein Befund, der zu erwarten war, da α-Rezeptoren der Venen die venöse Compliance regulieren. Das konjugierte Noradrenalin war deutlicher während der Orthostase reduziert als das konjugierte Adrenalin, und der Quotient, konjugiert/freiem Noradrenalin, nahm signifikant ab (Abb. 8, 9). In der anschließenden Erholungsphase im Liegen stieg der Quotient wieder an, was erkennen läßt, daß unter Orthostasebelastung Noradrenalin auch aus den Konjugaten freigesetzt wird, und eine verstärkte Sekretion von freien Katecholaminen aus dem Nebennierenmark erfolgt, wodurch der Quotient, konjugiert/freien Katecholaminen, kleiner wird, da die Katecholamine im Nebennierenmark nicht konjugiert werden. Durch diesen α_2-adrenergen Impuls werden vor allem die Funktionen des Niederdrucksystems adaptiert, wodurch die Preload ansteigt, und somit die Auswurfleistung des Herzens verbessert wird, so daß die orthostasebedingte Pulsfrequenzzunahme, der Abfall des systolischen Blutdrucks und der Dikrotie wieder normalisiert werden.

Ergometerbelastung

Die alpha-adrenerge Regulation, die in den Orthostaseversuchen gezeigt werden konnte, läuft partiell auch bei körperlicher Belastung in vertikaler Körperposition ab. Hinzu kommt noch die belastungsabhängige arterielle Blutumverteilung, die ebenfalls adrenerg gesteuert ist.

Die belastungsabhängigen Katecholaminveränderungen wurden in der nachfolgenden Studie untersucht.

Bei 12 Sportstudenten in gutem Trainingszustand, ohne spezielles Wettkampftraining, wurden in achttägigen In-

Tab. 2: Normalwerte freier und konjugierter Katecholamine

	Noradrenalin	Adrenalin	Dopamin
Freie Katecholamine			
Serum	0,70–1,50 nmol/l	0,20–0,70 nmol/l	0,10–0,95 nmol/l
Liquor	0,25–1,05 nmol/l	0,05–0,50 nmol/l	0,05–0,40 nmol/l
Urin	100–450 nmol/l	17–100 nmol/l	400–1500 nmol/l
Konjugierte Katecholamine			
Serum	2,60–5,40 nmol/l (67%)	1,90–2,90 nmol/l (80,4%)	30,4–41,1 nmol/l (99,3%)

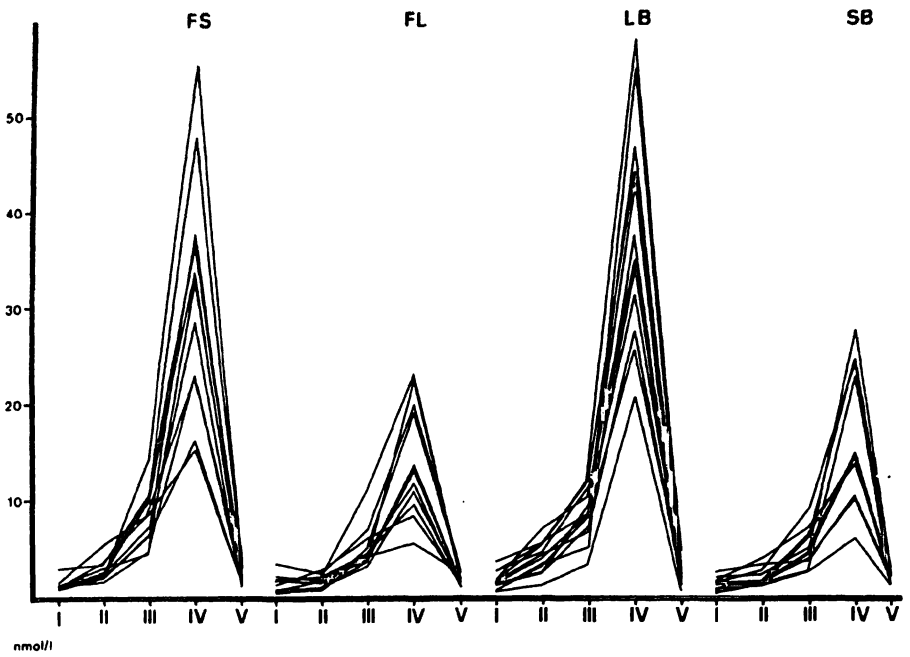


Abb. 4: Individuelle Noradrenalinsteigerung nach Aufwärmphase, submaximaler Belastung, maximaler Belastung und in der Erholungsphase auf dem Fahrrad sitzend (Fs), dem Fahrrad liegend (Fl), dem Laufband (Lb), der Schwimmbank (Sb) bei Ergometertesten

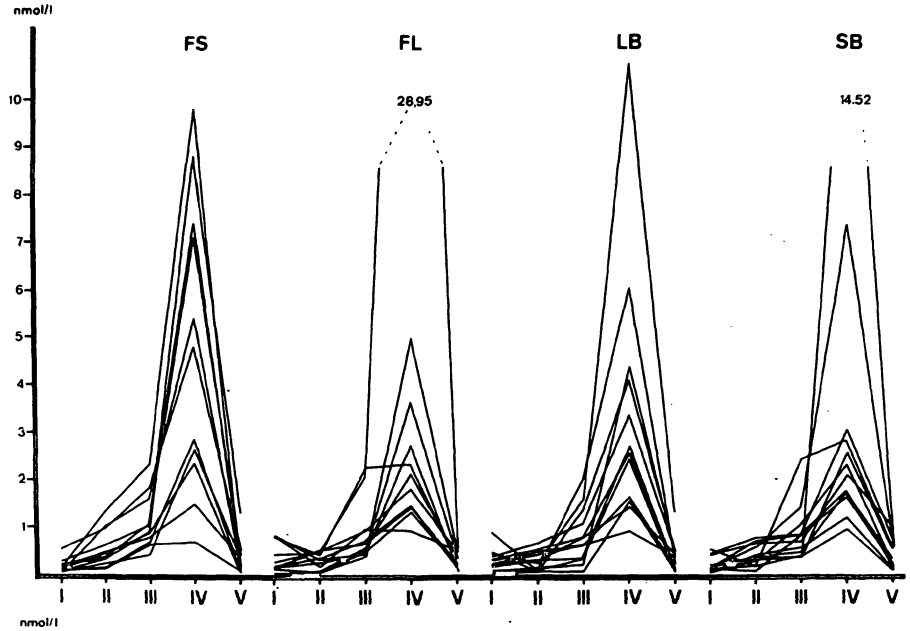


Abb. 5: Individuelle Adrenalinsteigerung nach Aufwärmphase, submaximaler Belastung, maximaler Belastung und in der Erholungsphase auf dem Fahrrad sitzend (Fs), dem Fahrrad liegend (Fl), dem Laufband (Lb), der Schwimmbank (Sb) bei Ergometertesten

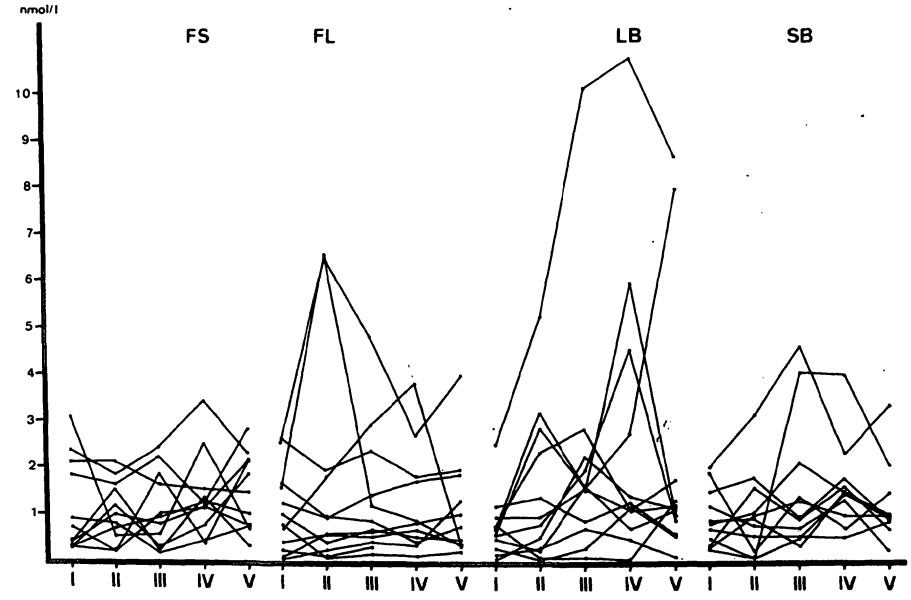
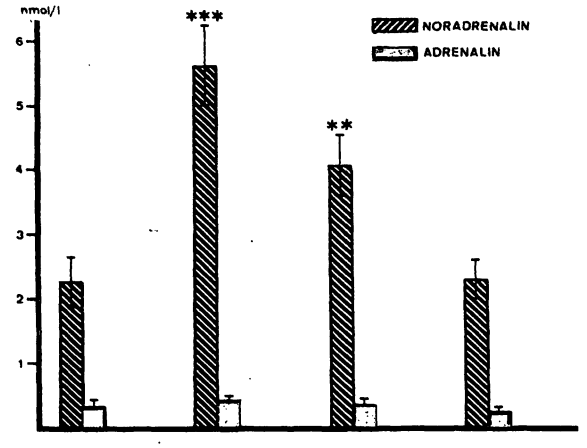


Abb. 6: Individuelle Dopaminsteigerung nach Aufwärmphase, submaximaler Belastung, maximaler Belastung und in der Erholungsphase auf dem Fahrrad sitzend (Fs), dem Fahrrad liegend (Fl), dem Laufband (Lb), der Schwimmbank (Sb) bei Ergometertesten



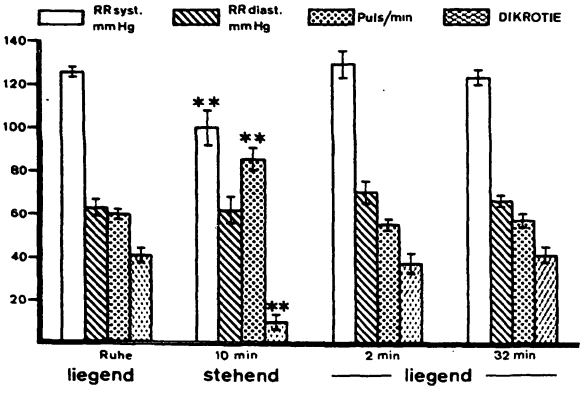


*Abb. 7: Noradrenalin- und Adrenalinveränderungen sowie Blutdruckwerte, systolisch und diastolisch, Herzfrequenz und Dicrotie im Orthostasetest. *** $p < 0{,}001$; ** $p < 0{,}01$ bezogen auf den Ausgangswert*

tervallen die Spiroergometrien auf dem Fahrrad sitzend und liegend sowie auf dem Laufband und der Schwimmbank durchgeführt. Nach 20 min Ruhe in liegender Position, in der bereits die Verweilkanüle gelegt worden war, wurde eine Aufwärmphase mit anschließender submaximaler Belastung bei der aerob-anaeroben Schwelle vorgenommen, der sich direkt die maximale Belastung anschloß, gefolgt von einer 20 min dauernden Erholungsphase. Die freien Katecholamine zeigten eine deutliche Abhängigkeit von verschiedenen Körperpositionen. In der Vertikalen war auf dem Fahrrad sitzend und auf dem Laufband der Noradrenalinanstieg stärker ausgeprägt als auf dem Fahrrad liegend und bei der Schwimmbankuntersuchung. Die Adrenalinzunahme, bezogen auf die geleistete Arbeit und die $VO_2max.$, war in horizontaler Position relativ höher. Besonders in der Schwimmbankergometrie, bei der kleinere Muskelmassen vorwiegend der Arme tätig sind, war auch eine stärkere Lactatakkumulation und ein höherer diastolischer Blutdruck als bei vertikalen Ergometerbelastungen festzustellen (Abb. 10). Die betonte Armarbeit dürfte für die adrenerge Regulation einen stärkeren

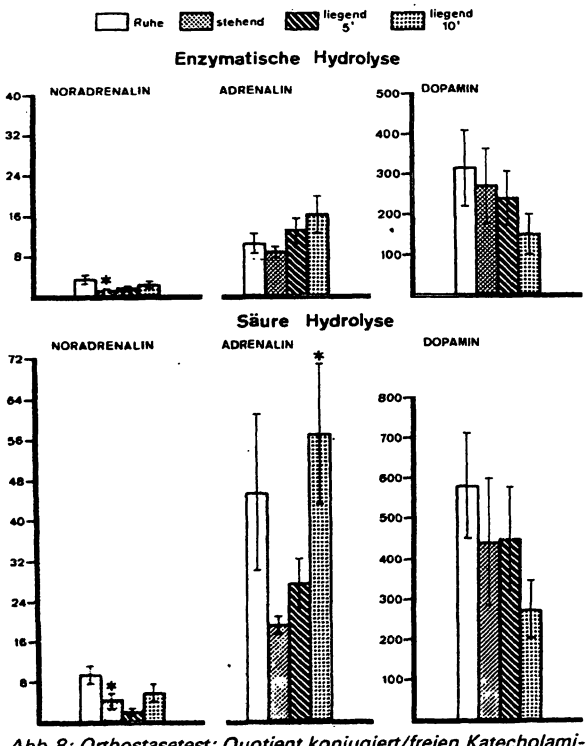


*Abb. 8: Orthostasetest: Quotient konjugiert/freien Katecholaminen nach enzymatischer und Säurehydrolyse. * $p < 0{,}05$ bezogen auf den Ausgangswert (s. Abb. 2)*

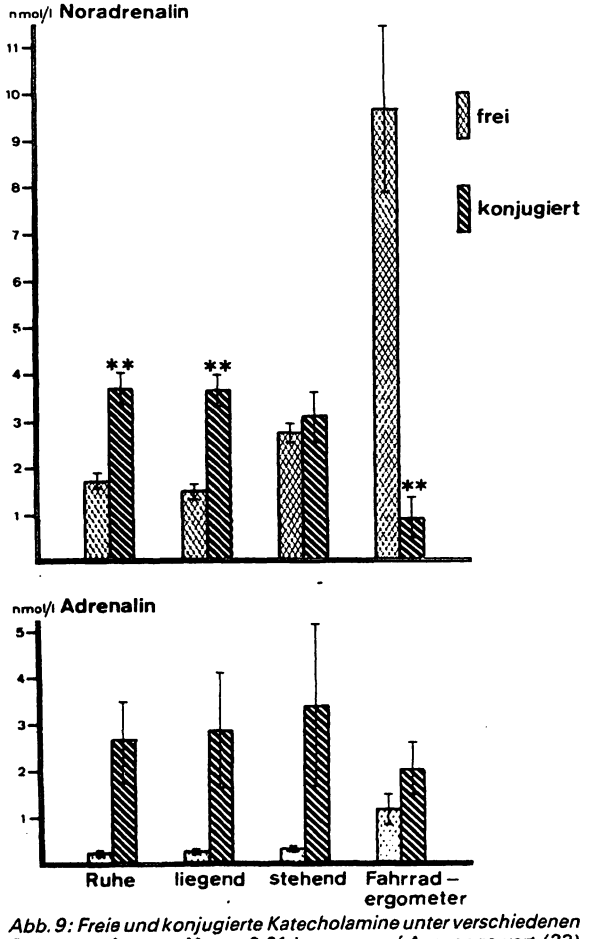


*Abb. 9: Freie und konjugierte Katecholamine unter verschiedenen Belastungsformen. ** $p < 0{,}01$ bezogen auf Ausgangswert (22)*

Impuls darstellen, wie auch bei den Dauerbelastungen im Schwimmen gezeigt werden konnte. Im submaximalen Bereich scheint eine geringere Katecholaminfreisetzung zu erfolgen als bei kurzfristiger maximaler Belastung. Auch ist es für das Ausmaß des Katecholaminanstieges nicht unwesentlich, ob die maximale Belastung im Anschluß an eine Ruhepause oder direkt an eine submaximale Belastung stattfindet. Die konjugierten Katecholamine nehmen unter Belastung ab, was aus der signifikanten Reduktion des Quotienten, konjugiert/freien Katecholaminen, sowohl für Noradrenalin als auch Adrenalin zu ersehen ist. Bei Dopamin fanden wir weder bei dem freien, dem konjugierten Dopamin noch bei den Quotienten eine Systematik, die der Belastungsart, Dauer und Intensität entsprach (Abb. 11 a, b). Da die konjugierten Katecholamine im venösen Blut höher liegen als im arteriellen, erscheint es zumindest für Noradrenalin wahrscheinlich, daß Sulfatasen bei der Muskelpassage Noradrenalin aus den Konjugaten freigesetzt werden (Abb. 12). Es ist demnach anzunehmen, daß rezeptorenstimulierende freie Katecholamine nicht nur durch Sekretion, sondern auch durch Dekonjugation verfügbar werden. Dieser Befund ist für die Aufwärmphase unter sportlicher Belastung, bei Intensitätssteigerung, aber auch bei der Umstellung von Ruhe zur Arbeit bedeutungsvoll. Bei der Untersuchung von cardiozirkulatorischen Risikopatienten erscheint die liegende Position im Hinblick auf die relativ starke Adrenalinsekretion belastender als eine Ergometrie in sitzender Position auf dem Fahrrad. Diese Befunde, die unter Laborbedingungen erhoben wurden, konnten auch in Fehlstudien bestätigt werden.

Bei Schwimmdisziplinen fanden wir höhere Adrenalin- und Noradrenalinanstiege als bei Sportarten an Land unter vergleichbaren Belastungsbedingungen (Abb. 13). In Doppelbelastung beim Schwimmen über die 100-m-Sprintstrecke und die 1500-m-Ausdauerstrecke war in der Zweitbelastung nach 100 m der Adrenalinanstieg geringer als in der Erstbelastung. Bei 1500 m waren Noradrenalin und Adrenalin nach der zweiten Belastung geringer als nach der ersten. Bei 3000-m-Schwimmstrecken, die zweimal innerhalb von 24 h geschwommen worden waren, waren die Katecholamine am 2. Tag nach Belastung niedriger als am 1. Tag, obwohl Herzfrequenz, Blutdruck und Lactatanstieg keinen Unterschied zeigten. Hingegen war Renin am 1. Tag niedriger als am 2. Tag (Abb. 14 a, b). Da sowohl die Katecholamine als auch Renin für die Blutdruckregulation entscheidende Hormone sind, ist es nicht erstaunlich, daß wir bei den untersuchten Schwimmkollektiven, die sich aus Spitzenschwimmern zusammensetzten, über dem Altersdurchschnitt liegende systolische und diastolische Blutdruckwerte fanden. Dieser Befund gewinnt noch an Bedeutung, da auch bei ehemaligen Leistungsschwimmern überproportional häufig zum Teil fixierte Hypertonien festgestellt wurden. Neben der horizontalen Körperlage und der betonten Armarbeit dürfte vor allem der Wasserdruck und die veränderte Temperaturregulation die

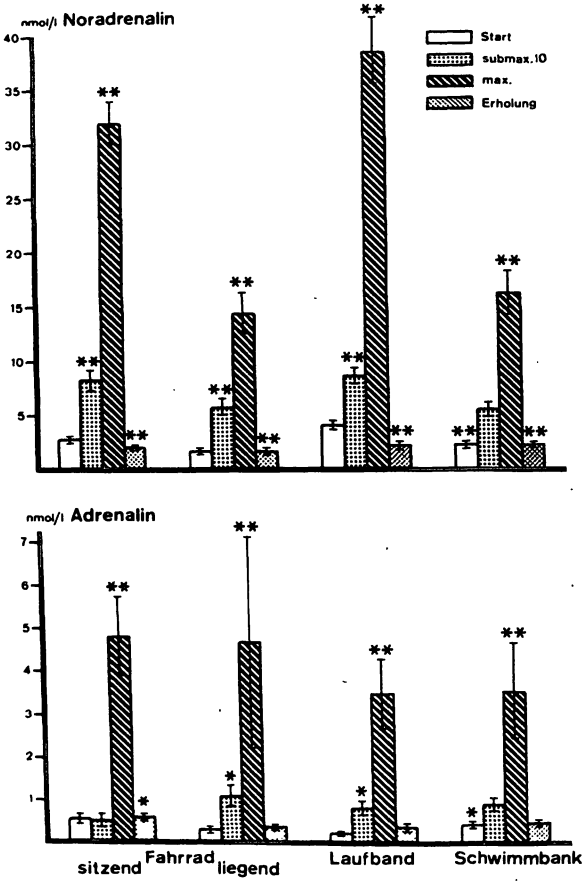


*Abb. 10: Noradrenalin und Adrenalin während unterschiedlicher Ergometerteste. In der Aufwärmphase, bei submaximaler Belastung, bei maximaler Belastung und 20 min nach Erholung. ** $p < 0{,}01$ bezogen auf den jeweils davorliegenden Wert*

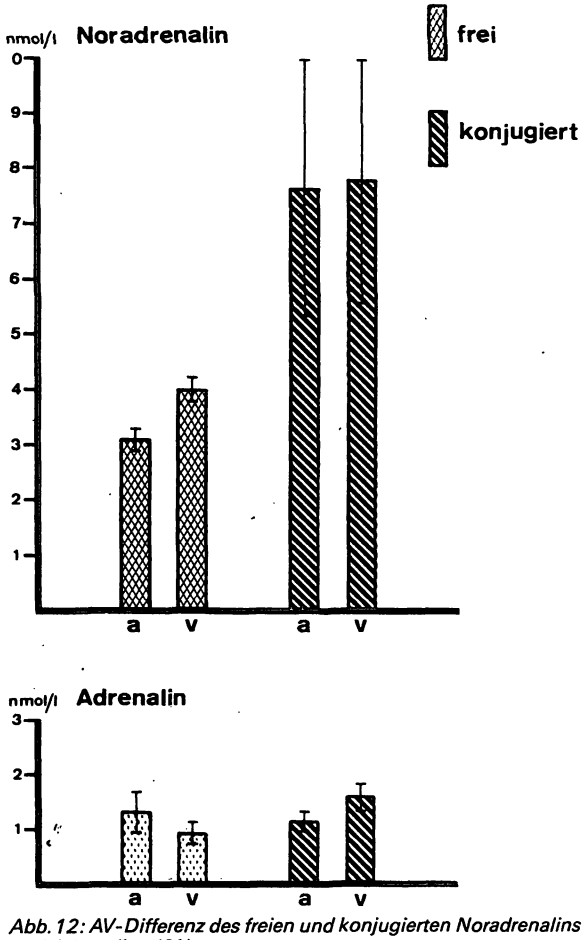


Abb. 12: AV-Differenz des freien und konjugierten Noradrenalins und Adrenalins (21)

Abb. 11a: Quotient Noradrenalinsulfat/ Noradrenalin vor und nach Ergometerbelastung, enzymatische Hydrolyse (s. Abb. 10)

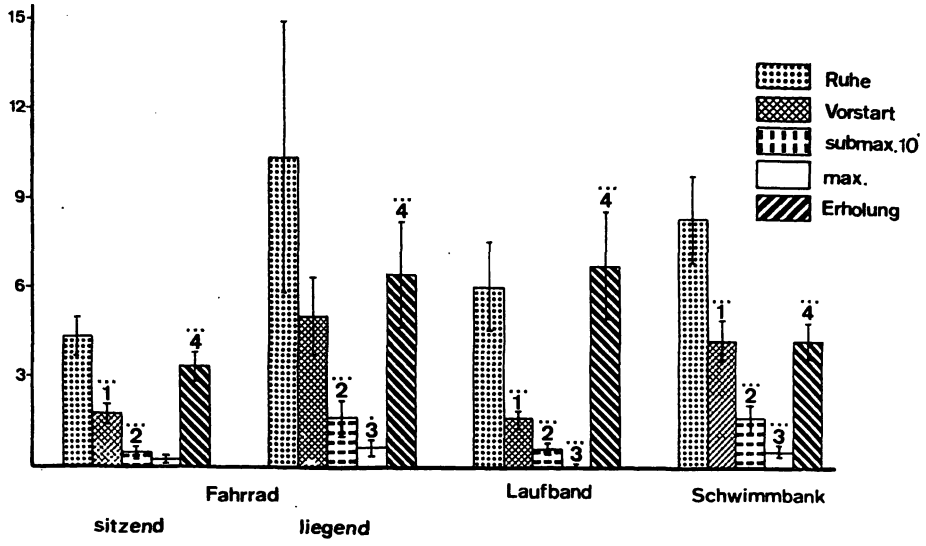
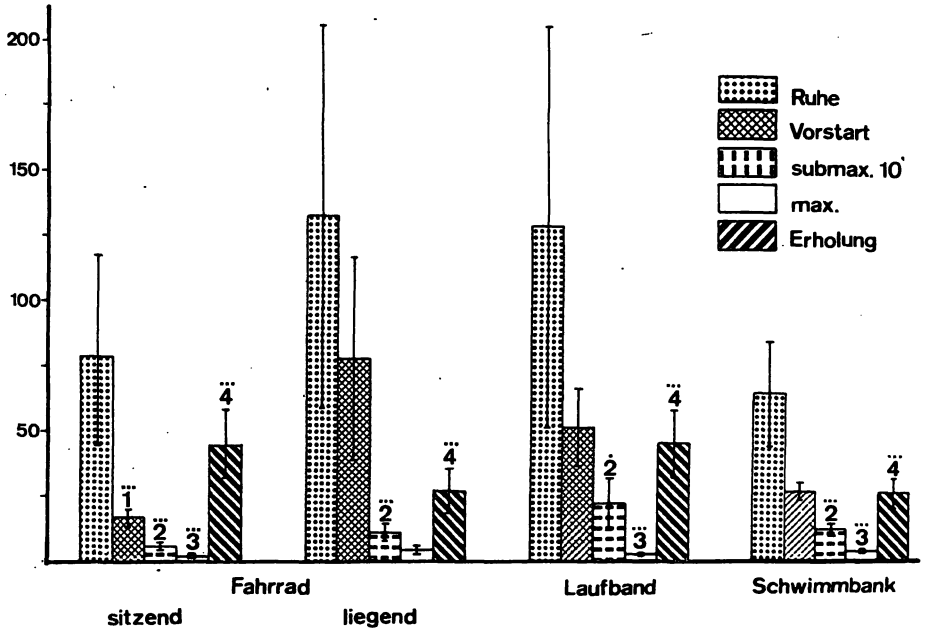


Abb. 11b: Quotient Adrenalinsulfat/Adrenalin vor und nach Ergometerbelastung, enzymatische Hydrolyse (s. Abb. 10)



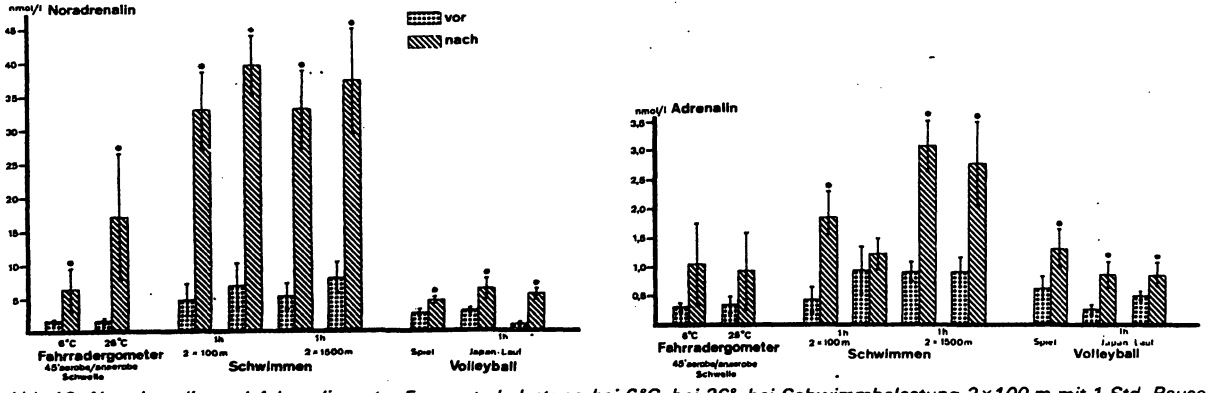


Abb. 13: Noradrenalin und Adrenalin unter Ergometerbelastung bei 6 °C, bei 26°, bei Schwimmbelastung 2×100 m mit 1 Std. Pause zwischen den Belastungen und 2×1500 m mit 1 Std. Pause. Volleyballspiel, vor und nach dem Spiel, Japanläufe, Doppelbelastung mit 1 Std. Pause zwischen den Japanläufen

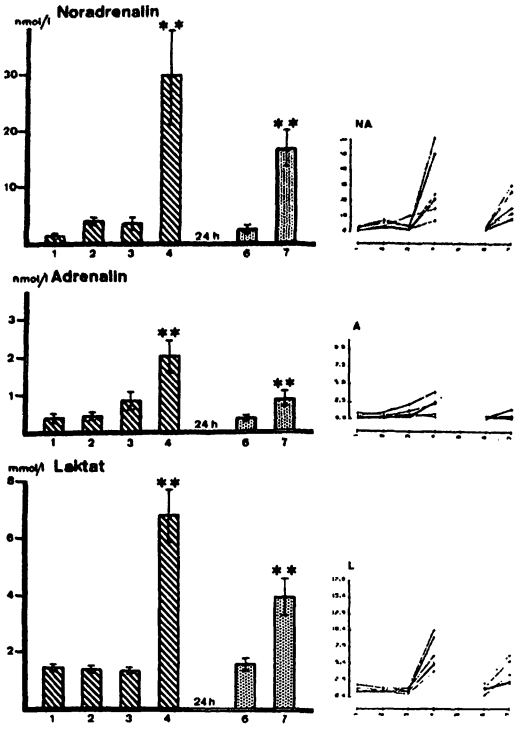


Abb. 14a: Noradrenalin, Adrenalin und Lactat bei Schwimmdoppelbelastung über 3000 m, 1 = Ruhewert, 2 = Eintauchwert, 3 = Aufwärmphase, 4 = Belastung, 6 = Ruhewert vor der zweiten Belastung, 7 = nach Belastung

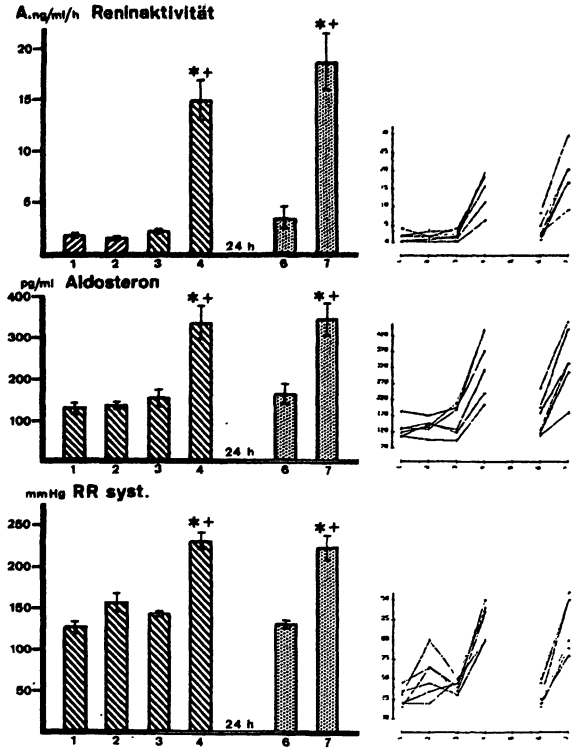


Abb. 14b: Schwimmdoppelbelastung über 3000 m. Renin, Aldosteron und systolischer Blutdruck (s. Abb. 14a)

verstärkte sympathikoadrenerge Stimulation auslösen. Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, daß bei Hochleistungstraining der Schwimmer auch in der Wettkampfphase Ausgleichstrainingsperioden an Land eingelegt werden sollen.

Da bei den Coronarsportgruppen in den letzten Jahren festgestellt wurde, daß Schwimmen auch bei geringer Intensität, besonders bei hohen Wassertemperaturen um 33° C eine überdurchschnittliche Risikokomponente darstellt, erscheint es wichtig, diese hier beobachtete intensive adrenerge Stimulation besonders bei Rehabilitationssportgruppen von Coronarpatienten und Hypertonikern zu beachten. Langlaufausdauerbelastung, besonders in Form von Crossläufen, Jogging, aber auch Skilanglauf, bewirkt eine Reduktion des sympathoadrenergen Tonus und ist in Prävention und Rehabilitation bei hyperkinetischen Kreislaufregulationen zu empfehlen.

Gegenüber anderen Membranrezeptoren, z. B. Insulinrezeptoren, zeigen die Adrenorezeptoren eine starke Oszillation zwischen Zellmembran und Zellinnerem. Ausdauertraining bewirkt eine Zunahme der Rezeptorendichte, wahrscheinlich auch eine Steigerung der Rezeptorenaffinität für Katecholamine, wodurch auch der Postrezeptorenmechanismus des zyklischen AMP-Systems beeinflußt wird. Bereits unter der akuten Belastung steigt die Rezeptorzahl an, und es kommt zu einer Zunahme der zyklischen AMP-Produktion (Abb. 15).

Bei 10 gut trainierten Langläufern untersuchten wir die freien und konjugierten Katecholamine nach 20 min Ruhe, einer Aufwärmphase von 10 min, nach einem 10000-m-Lauf und in der Erholungsphase nach 20 und 60 min. Im Gegensatz zu der Ausdauerbelastung beim

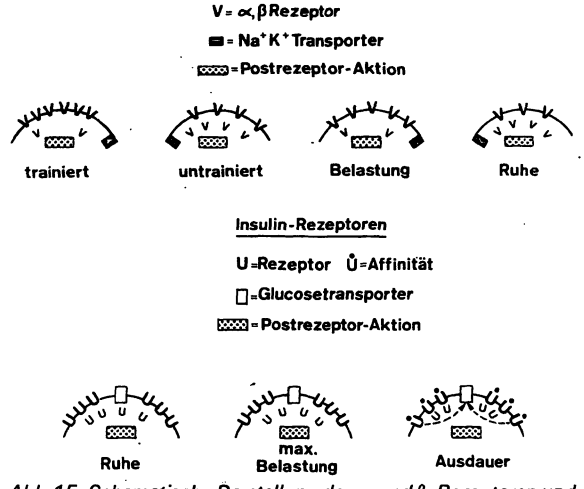


Abb. 15: Schematische Darstellung der α- und β-Rezeptoren und der Insulinrezeptoren bei Ruhe, Belastung, maximaler Belastung, trainiert und untrainiert

Schwimmen fanden wir nur einen mäßigen Anstieg des Noradrenalins und Adrenalins, der bereits in der Aufwärmphase einsetzt und sein Maximum nach dem Lauf erreichte. Adrenalin hat nach 60 min wieder den Ausgangswert erreicht. Noradrenalin lag jedoch höher, wenn auch nicht signifikant höher als der Ruhewert (Abb. 16). Die Katecholaminwerte zeigten individuelle Schwankungen und waren mit den Lactatwerten nach dem Lauf gut korreliert. Hingegen fanden wir keine signifikanten Korrelationen zwischen Konzentrationen der Katecholamine,

der Pulsfrequenz, der systolischen oder diastolischen Blutdruckwerte (Tab. 3). Die konjugierten Katecholamine stiegen unter Belastung ebenfalls signifikant an, kehrten jedoch nach Belastung nicht zu den Ruhewerten zurück. Der Quotient konjugierte/freien Katecholaminen, war bereits in der Aufwärmphase reduziert und verminderte sich noch nach dem Lauf. Besonders ausgeprägt war dies beim Noradrenalin feststellbar. In der Erholungsphase stieg der Quotient für beide Katecholamine an und erreichte für Adrenalin sogar höhere Werte als vor der Belastung (Abb. 17). Bei gut trainierten Ausdauersportlern ist der Anstieg der Konjugate nach Belastung geringer, da sowohl die aus der sympathischen Nervenendigungen als auch aus dem Nebennierenmark freigesetzten Katecholamine von den Rezeptoren der Zellmembran in größerem Maße gebunden werden. Hierdurch wird die Metabolisierung und Konjugationsrate der Katecholamine gesenkt. Aus dem Verhältnis von konjugiert/freien Katecholaminen, vor und nach Belastung, besonders in der Erholungsphase, ergeben sich somit verwertbare Hinweise auf den individuellen Ausdauertrainingszustand.

Phäochromozytom

Die Bestimmung der Serum-Katecholamine hat gegenüber der Bestimmung der Katecholamine im Urin die Diagnostik des Phäochromozytoms gefördert. In einigen Fällen machen jedoch unklare Katecholaminerhöhungen differentialdiagnostische Schwierigkeiten. Hier erscheint die Ermittlung der Quotienten konjugiert/freien Katecholaminen eine diagnostische Hilfe. Nach Rask et al. (25) werden die Katecholamine des Nebennierenmarks, sowohl Adrenalin als auch Noradrenalin und Dopamin nicht konjugiert, da trotz ausreichendem Phenolsulfotransferase-Angebot der Sulfatdonator Phosphoadenosinphosphosulfat (PAPS) in dem Nebennierenmark nur in geringer Menge vorliegt oder vollkommen fehlt. Sowohl bei dem Phäochromozytom mit vorwiegender Adrenalin- aber auch Noradrenalinsteigerung, als auch bei dem Neuroblastom, bei dem die Dopaminkonzentration erhöht sein kann, findet man sehr niedrige Quotienten der konjugierten/freien Katecholamine. Besonders bei der venösen Etagenabnahme ist dieser Quotient für die Lokalisation als zusätzlicher Parameter verwertbar. Diese einfache Bestimmung der sulfatierten Katecholamine, die aus der gleichen Probe vorgenommen werden kann, stellt eine diagnostische Bereicherung dar.

Urinkatecholamine

Die hohe Konzentration von freien Katecholaminen im Urin führte dazu, daß man lange Zeit die Katecholaminbe-

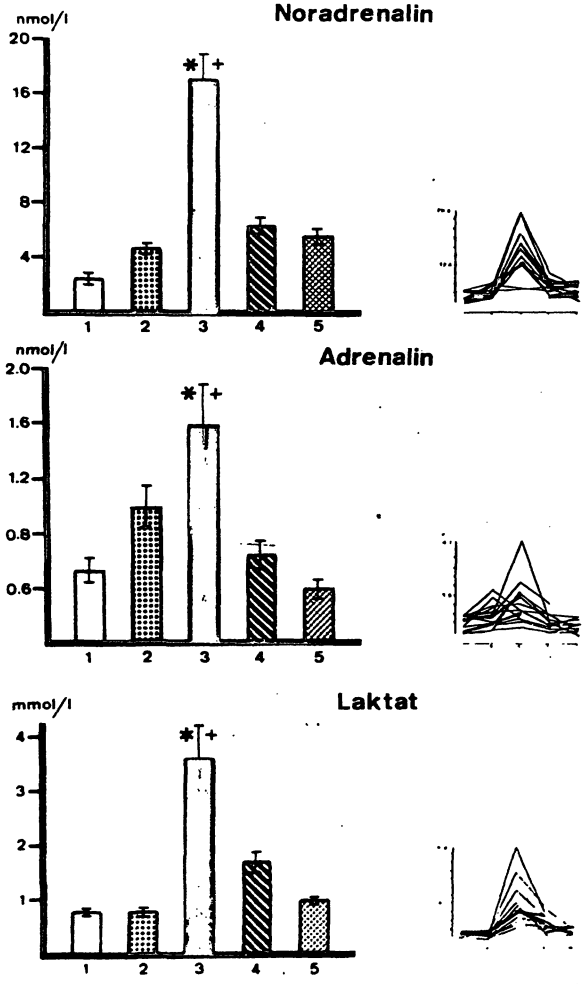


Abb. 16: Noradrenalin, Adrenalin und Lactat, während Laufbelastung über 10000 m. 1 = Ruhewert, 2 = Aufwärmphase, 3 = Belastung, 4 = Erholungsphase nach 20 min, 5 = Erholungsphase nach 60 min

Tab. 3: Korrelation zwischen Katecholaminen und hämodynamischen und metabolischen Parametern in Feldversuchen

Korrelation	Sprint	Langstreckenlauf
Noradrenalin: Adrenalin	0,897**	0,552*
Noradrenalin: Lactat	0,714**	0,725**
Adrenalin: Lactat	0,647*	0,707**
Noradrenalin: Herzfrequenz	0,697*	n.s.
Adrenalin: Herzfrequenz	0,657*	n.s.
Noradrenalin: systolischem Blutdruck	0,673*	n.s.
Adrenalin: systolischem Blutdruck	0,645*	n.s.

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

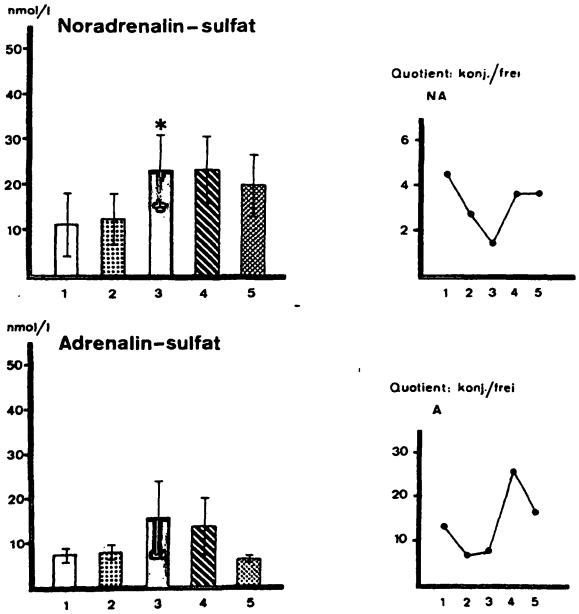


Abb. 17: Noradrenalinsulfat, Adrenalinsulfat und Quotienten zwischen konjugiert/freien Katecholaminen (s. Abb. 16)

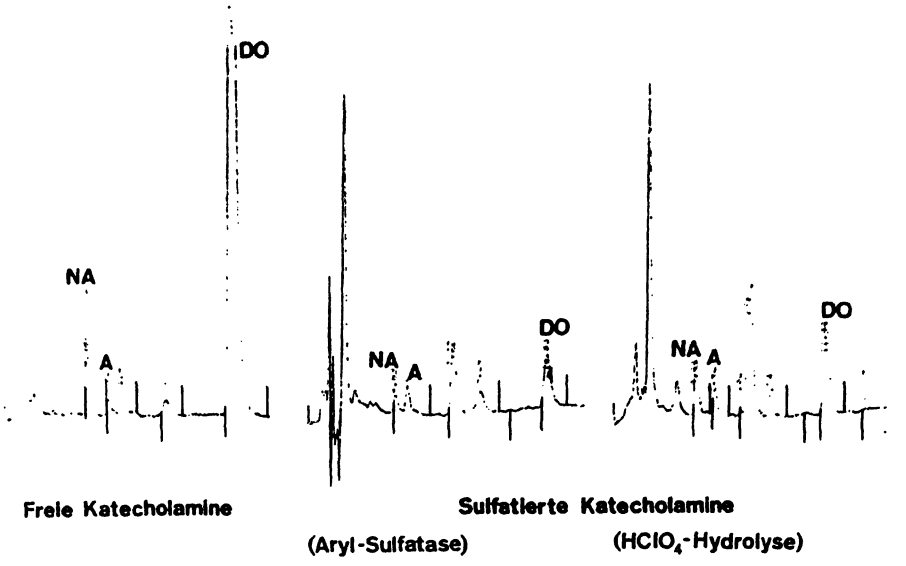


Abb. 18: Freie und sulfatierte Katecholamine im Urin nach enzymatischer und Säurehydrolyse

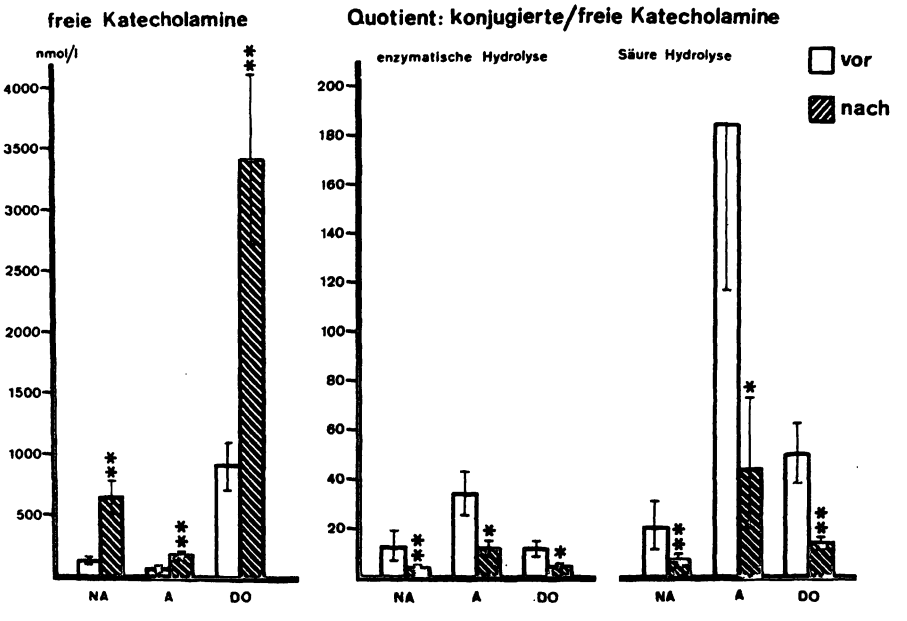


Abb. 19: Freie Katecholamine und Quotient konjugiert/freien Katecholaminen nach 2 Sätzen Tischtennis.
** $p < 0{,}01$ NA (Noradrenalin), A (Adrenalin) und D (Dopamin)

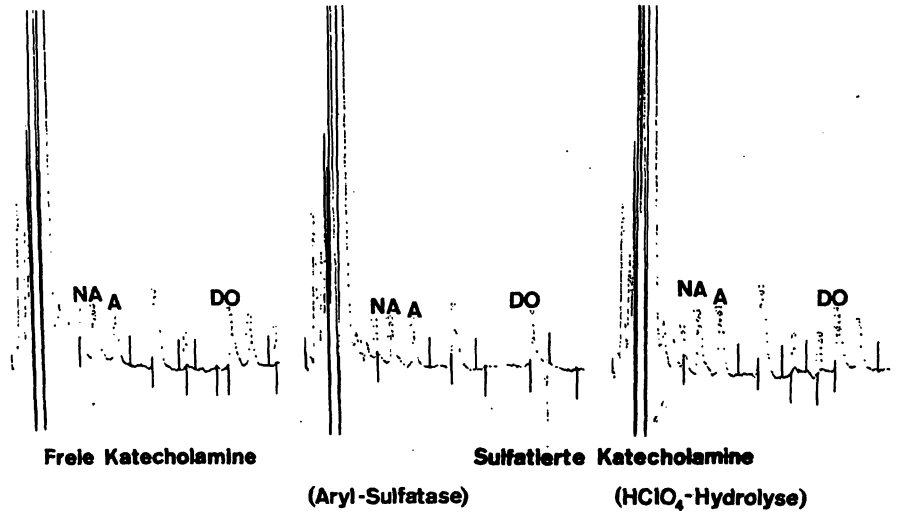


Abb. 20: Freie und konjugierte Katecholamine nach enzymatischer und Säurehydrolyse im Liquor

stimmung nur im Urin vornahm, da ältere Methoden für den Serumkatecholaminnachweis zu unempfindlich waren. Die Ursache der hohen Urinkatecholaminwerte wurde unterschiedlich diskutiert (4, 28). Man nahm einen Konzentrierungseffekt aber auch eine renale Katecholaminsekretion an (Abb. 18).

Bei Tischtennisspielern einer Regionalliga untersuchten wir deshalb die freien und konjugierten Katecholamine vor und nach wettkampfmäßigen Trainingsspielen. Nach Belastung stiegen die freien Katecholamine Noradrenalin, Adrenalin aber auch Dopamin signifikant an. Die Steigerung der VMS war prozentual etwas geringer. Die Konzentration der sulfatierten war gegenüber den freien Katecholaminen niedriger und der Quotient, konjugiert zu freien Katecholaminen, war im Urin in Ruhe kleiner als im Serum und sank nach Belastung signifikant ab. Dies spricht dafür, daß die hohe Konzentration der freien Katecholamine durch Dekonjugation eintreten kann, was bei dem Sulfatasereichtum der Niere zu erwarten war. Durch die verstärkte Dekonjugation wird auch die Metabolisierungsrate erhöht und führt zu einem Konzentrationsanstieg der VMS und HVS sowie der Meta- und Normetanephrine gegenüber der Serumkonzentration, da eine Verstoffwechselung nur bei freien oder freigesetzten Katecholaminen stattfindet (Abb. 18, 19).

Liquor Cerebrospinalis

Der Nachweis von freien und konjugierten Katecholaminen im Liquor, die in niedrigeren Konzentrationen als im Serum und Urin vorliegen, ist technisch mit der gleichen Methode wie die Serum-Katecholaminbestimmung durchführbar (Abb. 20). Mit hochempfindlichen amperometrischen Detektoren sind ihre Konzentrationen gut nachweisbar. Da jedoch Lumbal- oder Ventrikelpunktionen nur bei strengen Indikationen durchgeführt werden können, ist die Erfahrung über die Katecholaminveränderungen bei den einzelnen neurologischen Krankheitsbildern im Liquor noch gering. Theoretisch erscheint jedoch die Konjugation von Dopamin, das eine der wichtigsten Neurotransmitter des Gehirns darstellt, von Bedeutung, da PST und PASP im Gehirn nachweisbar sind, und echte Synapsen vorliegen, bei denen ein prä- und postsynaptischer Regelmechanismus abläuft. Wie wir mit 4-0-Dopaminsulfat an Lymphozyten zeigen konnten, haben die Konjugate keine Rezeptoraffinität, und der Postrezeptorenmechanismus der zyklischen AMP wird durch Dopaminsulfat nicht stimuliert. Es ist anzunehmen, daß bei der Differenzierung der cerebralen Dopamin-Rezeptorinteraktion in den nächsten Jahren auch die konjugierten Katecholamine mehr Beachtung finden werden. Ob die Sulfatanlagerung an der 3-0-Position, die durch Sulfatasen nicht abspaltbar sein soll, eine Erklärung für fehlende Dopaminstimulation an der Postsynapsie ist, kann erst entschieden werden, wenn diese Frage mit isoliertem 3-0-Dopamin experimentell überprüft wurde.

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse kommt man zu dem Schluß, daß die konjugierten Katecholamine der Belastung durch Sulfatase dekonjugiert werden können, um danach mit den Adrenorezeptoren zu reagieren. Bei dem hohen Prozentsatz von konjugierten Katecholaminen an den Gesamtkatecholaminen sind sie praktisch eine Katecholamindepotform, die ohne Neusekretion die adrenerge Stimulation potenzieren kann. Auf der anderen Seite verhütet die Konjugation der Katecholamine ihre Metabolisierung und damit den Verlust einer differenten, für den Körper wichtigen Substanz. Überschießende Katecholaminfreisetzung, die zur Stimulation des adrenergen Systems führen könnte, werden durch die Konjugation verhütet, da die Konjugate nicht mit den Adrenorezeptoren reagieren. Diese Gesichtspunkte sind in der Betrachtung des sympathoadrenergen Regulation von funktioneller Bedeutung, die bei ihrem Anteil an den Gesamtkatecholaminen nicht unterschätzt werden darf. Die durchgeführten Belastungsuntersuchungen erlaubten sowohl bei dem Orthostasetest, den unterschiedlichen Ergometerbelastungen bei verschiedenen Körperpositionen, Intensität und Dauer sowie in den Feldstudien im Serum die Verhaltensweise der Konjugate näher zu charakterisieren. Besonders die Ermittlung des Quotienten konjugiert/frei scheint ein hilfreicher Parameter zu sein, der erlaubt, Trainingszustände zu beurteilen und zu differenzieren. Da bei der Orthostasereaktion signifikante Noradrenalinanstiege eintreten, und auch die Freisetzung aus den Konjugaten stärker ist als in liegender Position, erfolgt eine bessere Anpassung der α_2-Rezeptoren regulierten venösen Compliance, was zur Optimierung der Kreislaufverhältnisse in dem Niederdrucksystem beiträgt aber auch im arteriellen Gefäßschenkel die Blutumverteilung optimiert. Die Urinkatecholaminbestimmung läßt erkennen, daß bei der Nierenpassage eine Dekonjugation der Sulfokonjugate stattfindet, wodurch die hohe Konzentration von freien Katecholaminen im Urin erklärt werden könnte. Die Untersuchungen über die unterschiedliche Rezeptoraffinität zwischen freien und konjugierten Katecholaminen, die wir mit synthetisiertem 4-0-Dopaminsulfat nachweisen konnten, ist sicherlich bedeutungsvoll für die weitere Aufklärung der Bedeutung der Konjugate im Organismus. Dies kann jedoch erst dann befriedigend untersucht werden, wenn auch die Sulfokonjugate von Noradrenalin und Adrenalin sowohl in der 3- als auch in der 4-0-Form synthetisiert werden konnten. Trotz Literaturberichten ist die Synthese von 3-0-Dopaminsulfat und 4-0-Noradrenalin und Adrenalinsulfat (2, 19) experimentell schwierig. Ob 3-0- oder 4-0-Katecholaminsulfate sich unterschiedlich gegenüber Sulfatasen verhalten, muß experimentell abgeklärt werden, da sich hieraus einige interessante Fragestellungen über sulfatierte und nichtsulfatierte zentrale Neurotransmitter bei M. Parkinson aber auch Schizophrenie und Depression ergeben könnten.

Schrifttum:

1. ARAKAWA, Y., IMAI, K., TAMURA, Z.: Determination of Catecholamine Sulfoconjugate Isomers in Normal Human Urine by Use of High-Performance Liquid Chromatography with a Photochemical Detector. Anal. Chem. **132**, 389–399 (1983).
2. ARAKAWA, Y., IMAI, K., TAMURA, Z.: Improved Synthesis of Sulfoconjugate Isomers of Norephrine and Epinephrine, and Separation of All Sulfoconjugates of Catecholamines by Thin-Layer and High-Performance Liquid Chromatography. Chem. Pharm. Bull. **29**, 2086–2089 (1981).
3. ANDERSON, R. J., WEINSHILBOUM, R. M.: Phenosulphotransferase: enzyme activity and endogenous inhibitors in the human erythrocyte. J. Lab. Clin. Med. **94**, 158–171 (1979).
4. BAINES, A. D., CHAN, W.: Production of urine free dopamine from Dopa. J. Lab. Clin. Med. **90**, 527–535 (1980).
5. BUU, N. T., KUCHEL, O.: A new method for the hydrolysis of conjugated catecholamines. J. Lab. Clin. Med. **90**, 680–685 (1977).
6. BUU, N. T., DUHAIME, J., SAVARD, C., TRUONG, L., KUCHEL, O.: Presence of Conjugated Catecholamines in Rat Brain: A New Method of Analysis of Catecholamine Sulfates. J. Neurochem. **36**(2), 769–772 (1981).
7. BUU, N. T., KUCHEL, O.: Dopamine-4-0-sulfate: a possible precursor of free norepinephrine. Can. J. Biochem. **57**, 1159–1162 (1979).
8. BUU, N. T., KUCHEL, O., GENEST, J.: The extraadrenal synthesis of epinephrine in rats: The possible involvement of dopamine sulfate. J. Lab. Clin. Med. **98**, 527–535 (1981).
9. BUU, N. F., DUHAINE, J., KUCHEL, O.: Effects of 1 dopa on the concentration of free and sulfoconjugated catacholamines in plasma, cerebrospinal fluid, urine, and central and peripheral nervous system tissues in the rat. J. Neurochem. **43**, 787–792 (1985).
10. BUU, N. F.: Dopamine sulfoconjugation in the rat brain: Regulation by monoamine oxidase. J Neurochem. **43**, 470–476 (1985).
11. DA PRADA, M., ZÜRCHER, O.: Simultaneous Radioenzymatic Determination of Plasma and Tissue Adrenaline, Noradrenaline and Dopamine within the Femtomole Range. Life Sci. **19**, 1161–1174 (1976).

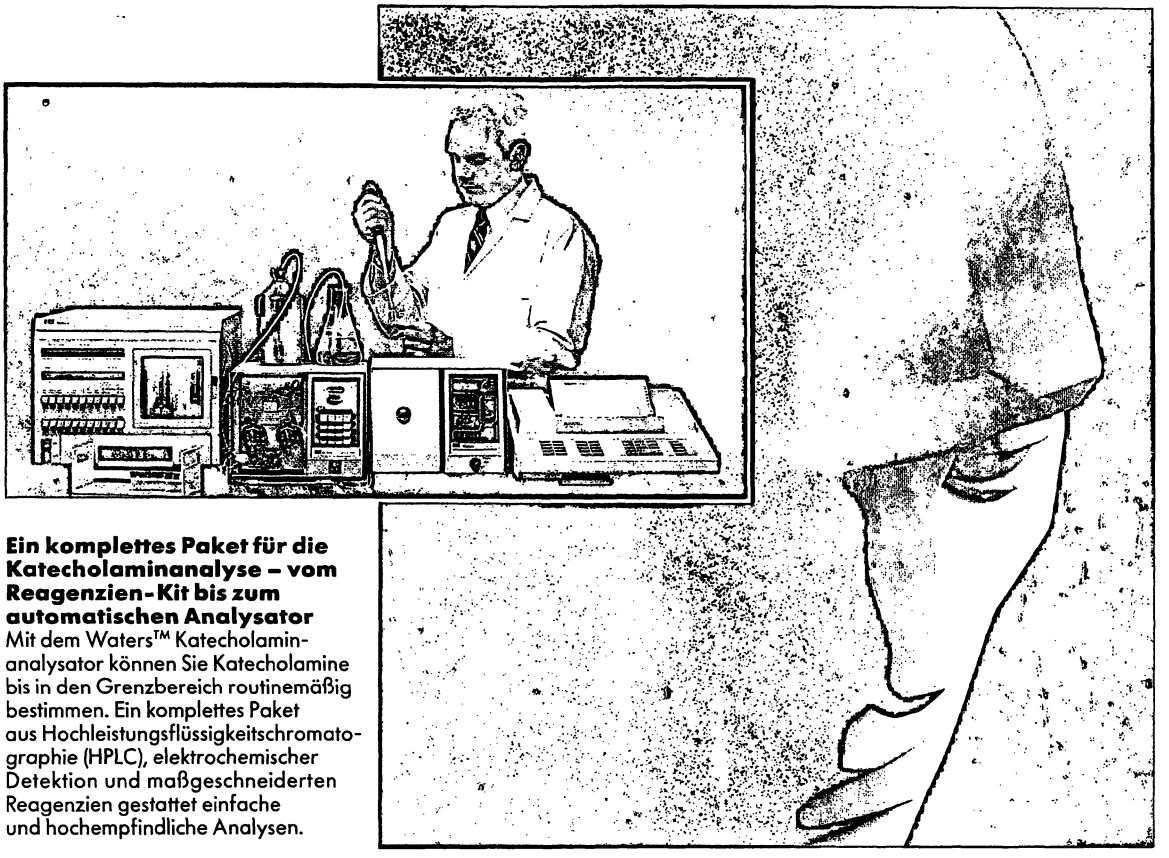
12. DAVIDSON, L., VANDONGEN, R., BEILIN, L. J., ARKWRIGHT, P. D.: Free and Sulfate-Conjugated Catecholamines during Exercise in Man. J. Clin. Endocrinol. Metab. **58**, 415–418 (1984).
13. ENGELMANN, K., PORTNOY, B., LOVENBERG, W.: A Sensitive and Specific Double Isotope Derivative Method for the Determination of Catecholamines in Biological Specimens. Am. J. Med. Sci. **255**, 259–268 (1968).
14. GOLDSTEIN, D. S.: Plasma Norepinephrine, in Essential Hypertension. Hypertension **3**, 48–52 (1981).
15. GOLDSTEIN, D. S., FEUERSTEIN, G., IZZO, J. L., KOPIN, I. R., KEISER, H. R.: Validity and Reliability of Liquid Chromatography with Electrochemical Detection for Measuring Plasma Levels of Norepinephrine and Epinephrine in Man. Life Sci. **28**, 467–475 (1981).
16. HART, R. F., RENKERS, K. J., NELSON, E. B., ROTH, J. A.: Localization and characterization of phenosulfotransferase in human platelets. Life Sci. **24**, 125–130 (1979).
17. HÄGGENDAL, J.: The Presence of Conjugated Adrenaline and Noradrenaline in Human Blood Plasma. Acta Physiol. Scand. **59**, 255–260 (1963).
18. HJEMDAHL, P.: Catecholamine Measurements by High Performance Liquid Chromatography. Am. Physiol. Soc. **247**, E13–20, (1984).
19. JENNER, W. N., ROSE, F. A.: Studies on the Sulphation of 3,4-Dihydroxyphenylthylamine (Dopamine) and Related Compounds by Rat Tissues. Biochem. J. **135**, 109–114 (1973).
20. JOHNSON, G. A., BAKER, C. A., SMITH, R. T.: Radioenzymatic assay of sulfate conjugates of catecholamines and dopa in plasma. Life Sci. **26**, 1591–1598 (1980).
21. JOYCE, D. A., BEILIN, L. J., VANDONGEN, R., DAVIDSON, L.: Epinephrine Sulfation in the Forearm: Arteriovenous Differences in Free and Conjugated Catecholamines. Life Sci. **31**, 2513–2517 (1982).
22. JOYCE, D. A., BEILIN, L. J., VANDONGEN, R., DAVIDSON, L.: Plasma Free and Sulfateconjugated Catecholamine Levels during Acute Physiological Stimulation in Man. Life Sci. **30**, 447–454 (1982).
23. LEHMANN, M., SCHMID, P., SPÖRI, R., KEUL, J.: Zur Empfindlichkeit freier und konjugierter Plasmakatecholamine als Indikatoren der linksventrikulären Kontraktionsstörung des Herzens. Z. Kardiol. **72**, 523–528 (1983).
24. NAGEL, M., SCHÜMANN, H.-J.: Sensitive Method for Determination of Conjugated Catecholamines in Blood Plasma. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. **18**, 431–432 (1980).
25. RASK, K., BUU, N. T., KUCHEL, O.: Regional distribution of free and sulfoconjugated catecholamines in the bovine adrenal cortex and medulla. Can. J. Physiol. Pharm. **62**, 622–626 (1984).
26. WANG, P.-C., BUU, N. T., KUCHEL, O., GENEST, J.: Conjugation patterns of endogenous plasma catecholamines in human and rat. A new specific method for analysis of glucuronide-conjugated catecholamines. J. Lab. Clin. Med. **101**, 141–151 (1983).
27. WEICKER, H., FERAUDI, M., HÄGELE, H., PLUTO, R.: Electrochemical detection of catecholamines in urine and plasma after separation with HPCL. Clin. Chim. Acta **141**, 17–25 (1984).
28. UNGER, Th., BUU, N. F., KUCHEL, O.: Renal handling of free and conjugated catecholamines following surgical stress in the dog. Am. J. Physiol. **235**, F542–F547.
29. ZIMMERMANN, E., SCHÄNTER, W., DONICKE, M.: Streßfaktoren vor und nach Wettkampf- bzw. Trainingsbelastung. In: HECK, H., HOLLMANN, W., LIESEN, H., ROST, R. (Eds.) Sport: Leistung und Gesundheit, Deutscher Sportärztekongreß Köln. Deutscher Ärzteverlag Köln, 277–281 (1982)

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. med. H. Weicker
Abt. für Innere Medizin VII
Sportmedizin und Pathophysiologie
Klinikum der Universität Heidelberg
Hospitalstraße 3
6900 Heidelberg 1

□

Jetzt können Sie Plasma- und Urin-Katecholamine routinemäßig analysieren – mit Picogramm-Empfindlichkeit.

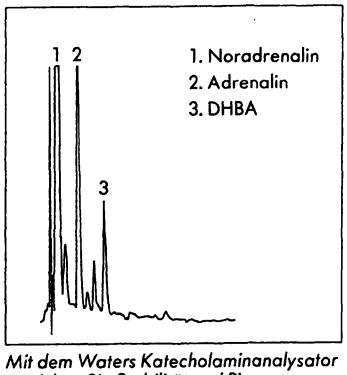


Ein komplettes Paket für die Katecholamin-analyse – vom Reagenzien-Kit bis zum automatischen Analysator
Mit dem Waters™ Katecholamin-analysator können Sie Katecholamine bis in den Grenzbereich routinemäßig bestimmen. Ein komplettes Paket aus Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), elektrochemischer Detektion und maßgeschneiderten Reagenzien gestattet einfache und hochempfindliche Analysen.

Reproduzierbare Resultate und geringere Kosten pro Analyse
Bei einfachster Handhabung erhalten Sie zuverlässige Analysenwerte mit Picogramm-Empfindlichkeit.
Im Gegensatz zu den traditionellen colorimetrischen Bestimmungen oder radioenzymatischen Assays liefert Ihnen die neue Methode präzisere Ergebnisse in kürzerer Analysenzeit. Von Tag zu Tag - von Labor zu Labor - erzielen Sie einzigartige. Reproduzierbarkeit, und dies mit geringeren Kosten pro Analyse als bei herkömmlichen Methoden.

Zuverlässige Leistung
Für einen garantiert hohen Standard an Genauigkeit und Präzision ist jede HPLC-Säule individuell vorbereitet und getestet. Das Systempaket enthält eine geprüfte Probenvorbereitung sowie vorbereitete Reagenzien in genügender Anzahl.

Vielseitigkeit
Der Waters Katecholaminanalysator ermöglicht die Bestimmung der Katecholamine und Metaboliten sowohl im Gewebe, Urin und CSF als auch im Plasma. Mit dem gleichen System können Sie aber auch Analysen anderer Substanzen durchführen.



Mit dem Waters Katecholaminanalysator erreichen Sie Stabilität und Picogramm-Empfindlichkeit selbst in der Plasma-Katecholaminbestimmung.

Möchten Sie mehr über die routinemäßige Katecholaminanalyse mit Picogramm-Empfindlichkeit und Kostenersparnis pro Analyse erfahren, dann kontaktieren Sie Ihre nächstgelegene Waters Niederlassung:

Millipore GmbH,
Waters Chromatographie,
Hauptstraße 71-79,
6236 Eschborn/Ts.
Tel. 0 61 96/494-0

Waters
MILLIPORE GmbH

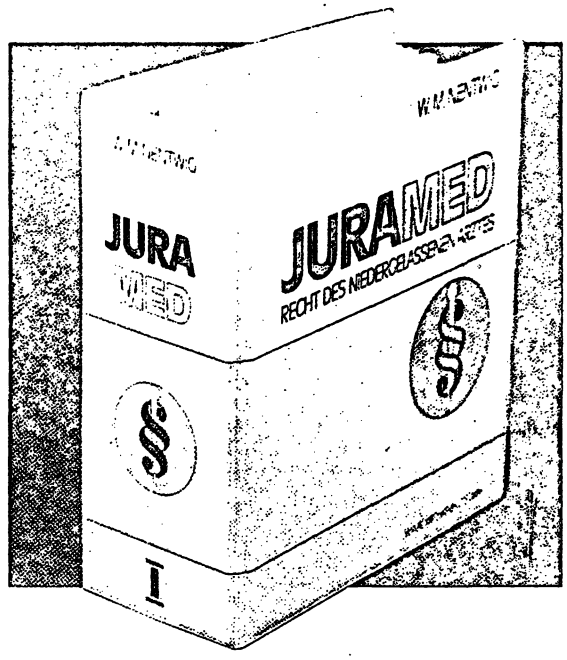
2. Auflage

JURAMED®

RECHT DES NIEDERGELASSENEN ARZTES

JURAMED gibt auch auf diese Fragen Auskunft:

Vor der Niederlassung – welche Formalitäten müssen erfüllt sein? ● Krankenschein wird nicht vorgelegt – darf der Arzt privat abrechnen? ● Wie kann man die Verjährung unterbrechen? ● Gilt die Schweigepflicht auch gegenüber der Ehefrau? ● Arzthelferinnen – einmal jährlich Hinweis auf die Schweigepflicht! ● Muß der Arzt den Patienten vor jedem Eingriff aufklären? ● § 218 StGB – darf jeder niedergelassene Arzt die soziale Beratung vornehmen? ● Gemeinschaftspraxis – ideale Form der Zusammenarbeit zwischen niedergelassenen Ärzten? ● Kennen Sie die Geheimsprache in Zeugnissen? ● Ist die mitarbeitende Arzt-Ehefrau automatisch unfallversichert? ● Wie gründet man eine Gemeinschaftspraxis? ● Ist die Praxisgemeinschaft der Gemeinschaftspraxis vorzuziehen? ● Praxisverkauf – wie hoch ist der ideelle Wert der Praxis? ● Was ist im Haftpflichtfall zu tun?



JURAMED

WAS IST JURAMED?

JURAMED ist ein praxisnahes Werk über das Recht des niedergelassenen Arztes, zusammengestellt von anerkannten Fachleuten, die wissen, wo den niedergelassenen Arzt (juristisch) der Schuh drückt.

JURAMED ist in klarer, verständlicher Sprache – nicht in verklausuliertem Juristendeutsch – geschrieben. In 20 übersichtlichen Gruppen werden die für den niedergelassenen Arzt aktuellen Rechtsfragen erstmals in einem Werk behandelt.

WARUM IST JURAMED IMMER AKTUELL?

JURAMED ist eine stets aktuelle Lose-Blatt-Sammlung. Sie werden immer auf dem neuesten Stand der Gesetzgebung und Rechtsprechung sein. Dafür sorgen die Nachtragslieferungen (ca. einmal jährlich).

WAS BIETET JURAMED SONST NOCH?

Viele praxisnahe Musterverträge, Formulare, Zeugnismuster (Geheimsprache in Zeugnissen), die viel lästige, zeitraubende Arbeit ersparen.

Rezensionen der 1. Auflage

Deutsches Ärzteblatt:

„... Das Werk, an dem eine Reihe im Arztrecht erfahrener Autoren mitgearbeitet haben, erfüllt den Zweck einer raschen Information vorzüglich".

Frankfurter Allgemeine Zeitung:

„... Allein ein Blick in das Kapitel „Schweigepflicht" macht deutlich, in welche Marktlücke JURAMED stößt."

Medical Tribune:

„JURAMED gehört neben die Rote Liste."

Ja, ich bestelle das Grundwerk JURAMED (Lose-Blatt-Werk), 518 Seiten, zum Preis von DM 98,–, sowie die ca. 1–2mal jährlich erscheinenden Nachtragslieferungen (Seitenpreis 29 Pf.). Alle Preise inklusive Mehrwertsteuer zuzüglich Versandkosten.

Datum/Praxisstempel/Unterschrift Lab. med. 2/86

Auf Postkarte kleben und einsenden an:

Verlag Kirchheim + Co GmbH,
Postfach 25 24, 6500 Mainz