

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, eine HPLC-Methode zur Bestimmung von Katecholaminen, 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) und einigen ihrer Metaboliten und Vorstufen in Gehirngewebe und Plasma zu entwickeln. Die Entwicklung und Etablierung dieses reversed-phase HPLC-Trennsystems mit nachfolgender Quantifizierung mittels elektrochemischer Detektion wird beschrieben.

Im Anschluß an eine relativ einfache Probenaufarbeitungstechnik konnten Katecholamin-, 5-Hydroxytryptaminmengen und entsprechende Mengen ihrer Derivate von mindestens 5 pg/20 µl Injektionsvolumen nachgewiesen werden. Die Bestimmungsmethode kam in drei Fragestellungen zur Anwendung.

1. Dizocilpinmaleat (MK-801), ein nicht-kompetitiver N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor-antagonist, ruft bei Nagern ein charakteristisches Bewegungssyndrom hervor. Diese Substanz wurde Ratten verabreicht, die zuvor an die Handhabungen in Versuchen gewöhnt wurden. Die Bestimmung der Konzentrationen der Monoamine und ihrer Metabolite unter Wirkung von Dizocilpin in 14 Gehirnregionen ergab einen gesteigerten Dopamin- und 5-Hydroxytryptaminmetabolismus in mehreren Regionen. Die Ergebnisse zeigten, daß nicht nur Effekte auf dopaminerge Transmittersysteme sondern auch auf serotoninerge Systeme an der pharmakologischen Wirkung von Dizocilpin beteiligt sein könnten. Bei entsprechenden Untersuchungen mit CGP 37849, einem oral wirksamen kompetitiven NMDA-Rezeptorantagonisten, konnten ähnliche Beziehungen zu dopaminergen und serotonergen Systemen festgestellt werden. Es wurden aber auch Unterschiede zur Dizocilpin-Wirkung sichtbar. CGP 39551 schien in einer CGP 37849 entsprechenden Dosis sowohl geringere verhaltensbeeinflussende Effekte als auch geringeren Einfluß auf Katecholamin- und 5-Hydroxytryptamin-Stoffwechselfvorgänge im Rattengehirn zu haben.

2. In einer zweiten Anwendung wurden geschlechtsdifferenzierte Bestimmungen an Tieren eines Goldhamstermodells für paroxysmale Dystonie (dt<sup>SZ</sup>-Goldhamstermutante) durchgeführt. Steigerungen im Noradrenalingehalt und häufig gleichzeitig beobachtbare 5-Hydroxyindolessigsäure-Gehaltserhöhungen in vielen Gehirnregionen der dystonen Goldhamster beiderlei Geschlechts lassen eine Beteiligung noradrenerger und serotonerger Transmittersysteme an dieser Dystonieform vermuten. Hinweise auf eine Beteiligung dopaminerger Systeme an dieser Dystonie ließen sich nicht finden.

3. Eine dritte Anwendung des Analysesystems erfolgte im Rahmen einer Dissertation zur malignen Hyperthermie des Schweines (GERDES 1992). Es war trotz einfacher Probenaufarbeitungstechnik möglich, 5-Hydroxytryptamingehalte in thrombozytenreichen und thrombozytenfreien Plasmaproben zu bestimmen.

Die beschriebene Methode ist ein Beweis dafür, daß trotz reduziertem Probenaufarbeitungsaufwand mit der HPLC-Technik und elektrochemischer Detektion die in physiologischen Geweben und Flüssigkeiten nur in geringen Mengen enthaltenen Katecholamine, 5-Hydroxytryptamin und ihrer Metaboliten in einem Bestimmungsgang nachgewiesen werden können.

## SUMMARY

Roger Annies

Establishment of a method for determination of catecholamines, 5-hydroxytryptamine, several of their metabolites and precursors in different brain regions and plasma. Examples for application in neuropharmacological research.

The present study shows the development of a HPLC method for determining catecholamines, 5-hydroxytryptamine (serotonin) and several of their metabolites and precursors in brain tissue and plasma. This reversed phase HPLC system with electrochemical detection was established.

Following a simple technique for preparation of samples, catecholamine and 5-hydroxytryptamine amounts of at least 5 pg/20  $\mu$ l injection volume like equivalent amounts of their derivatives were possible to determine. This method was used for three different questions.

1. Dizocilpine maleate (MK-801), a non-competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, which induces a characteristic motor syndrome in rodents, was administered to

rats after handling habituation to examine the effects of this drug on concentrations of monoamines and their metabolites in 14 brain regions. The data indicate that not only effects on dopaminergic transmission but also on serotonergic transmission may be involved in the pharmacological action of dizocilpine. Corresponding investigations with CGP 37849, an oral effective competitive NMDA receptor antagonist, yielded similar relations to dopaminergic und serotonergic transmission, but some differences became visible. CGP 39551 applicated in the same dose like CGP 37849 seemed to have minor effects on behaviour and on catecholamine and 5-hydroxytryptamine metabolism in rat brain.

2. Furthermore, sex differentiated analyses were realized with syrian hamsters (dt<sup>SZ</sup>-hamster mutant) as a model for paroxysmal dystonia. Rises of norepinephrine levels were frequently accompanied by increased 5-hydroxyindoleacetic acid amounts in many brain regions of male and female dt<sup>SZ</sup>-hamsters. This fact indicates a possible participation of noradrenergic and serotonergic transmission systems in the dystonia mentioned previously. There was no reference to participation of dopaminergic systems in this type of dystonia.

3. Within the scope of a dissertation about malignant hyperthermia of the pig (GERDES 1992) platelet-rich plasma and platelet-free plasma were examined for 5-hydroxytryptamine contents.

The described method is an evidence for use of HPLC technique with electrochemical detection for simultaneous quantification of catecholamines, 5-hydroxytryptamine and their metabolites without extensive sample preparation procedure in low concentrated physiological mediums.