

- Kaplow, L. S.: A histochemical procedure for localizing and evaluating leucocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow. *Blood* **10**, 1023 (1955).
- Klein, H. O., Heller, A.: PAS-positive erythroblasts in kidney diseases. *Acta haemat. (Basel)* **37**, 225 (1967).
- Lehnartz, E.: Biochemisches Taschenbuch, nachbearbeitet von v. Rauen. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
- Lennert, K.: Bildung und Differenzierung der Blutzellen, insbesondere der Lymphocyten. *Verh. Dtsch. Ges. Path.*, 50. Tagg, Heidelberg 1966, S. 163. Stuttgart: Fischer 1966.
- Löffler, H.: Cytochemischer Nachweis von unspezifischer Esterase in Ausstrichen. Beiträge zur Technik und Ergebnisse in Blutaussstrichen des Menschen. *Klin. Wschr.* **39**, 1220 (1961).
- Diskussionsbeitrag zum Thema Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen. Cyto- und Histochemie in der Hämatologie. IX. Freiburger Symposium. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- Berghoff, W.: Eine Methode zum Nachweis von saurer Phosphatase in Ausstrichen. *Klin. Wschr.* **40**, 363 (1962).
- Lohmann, E., Weissel, M.: Die Abhängigkeit der alkalischen Leukocytenphosphatase von Plasmak Faktoren. *Klin. Wschr.* **42**, 245 (1964).
- Malasková, V., Fuksová, J.: Alkaline phosphatase activity in immature granulocytes. *Brit. J. Haemat.* **15**, 119 (1968).
- Merker, H.: Zytochemische Beobachtungen bei Erythropathien unter besonderer Berücksichtigung von Glycogen und freiem Eisen. *Schweiz. med. Wschr.* **91**, 1209 (1961).
- Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen. Cyto- und Histochemie in der Hämatologie. IX. Freiburger Symposium. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- Cytochemie der Blutzellen. In: L. Heilmeyer: Handbuch innere Medizin, Bd. II, 1, S. 130 (1968). Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- Heilmeyer, L.: Die alkalische Phosphatase neutrophiler Leukocyten. *Dtsch. med. Wschr.* **85**, 253 (1960).
- Micu, D., Mihailescu, E.: Über den Wert der Bestimmung einiger Leukocytenphosphatasen bei verschiedenen malignen Erkrankungen des Blutes. *Folia haemat. (Lpz.)* **84**, 329 (1965).
- Nitowsky, H. M., Herz, F., Geller, S.: Induction of alkaline phosphatase in dispersed cell cultures by changes in osmolarity. *Biochem. biophys. Res. Commun.* **12**, 293 (1963).
- Pietschmann, H.: Zyto- und biochemische Untersuchungen zur Enzymopathie der neutrophilen Granuloocyten und ihrer Vorstufen. Wien: Hollinek 1968.
- Pimstone, B., Eisenberg, E., Stallone, W.: Decrease in serum alkaline phosphatase activity produced by magnesium depletion in rats. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **123**, 201 (1966).
- Plenert, W.: Cytochemische Phosphatasereaktionen zum Studium von Knochenmarkspunktaten. *Klin. Wschr.* **37**, 825 (1959).
- Plum, C. M.: Die alkalische Phosphatase in den Zellen des normalen und pathologischen Knochenmarkes und des peripheren Blutes. *Acta haemat. (Basel)* **4**, 73 (1950).
- Rozenzajn, L., Marshak, G., Efrati, P.: Acid phosphatase activity in normal human blood and bone marrow cells as demonstrated by the azo dye method. *Acta haemat. (Basel)* **30**, 310 (1963).
- Schubert, J. C. F.: Cytochemischer Nachweis der alkalischen Leukocytenphosphatase in Myeloblasten. *Med. Welt* **11**, 531 (1965).
- Scott, R. B., Still, W. J. S.: Glycogen in human peripheral blood leukocytes. II. The macromolecular state of leukocyte glycogen. *J. clin. Invest.* **47**, 353 (1968).
- Spannhoff, L.: Einführung in die Praxis der Histochemie. Jena: Fischer 1964.
- Suzuki, A., Shibata, A., Onodera, S.: Histochemical double staining method for simultaneous demonstration of acid and alkaline phosphatases on bone marrow smears. *Tohoku J. exp. Med.* **95**, 127 (1968).
- Undritz, E.: Haematologische Tafeln Sandoz. Nürnberg: Sandoz AG 1952.
- Die Peroxydasereaktion und ihre praktische Bedeutung. In: H. Merker, Cyto- und Histochemie in der Hämatologie, S. 193. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- Zur Aktivität der alkalischen Phosphatase bei der chronischen myeloischen Leukaemie. *Schweiz. med. Wschr.* **95**, 1515 (1965).
- Die Alius Grignaschi-Anomalie: Der erblich konstitutionelle Peroxydasedefekt der Neutrophilen und Monocyten. *Blut* **14**, 129 (1966).
- Valentine, W. N., Tanaka, K. R., Fredricks, R. E.: Studies on leukocyte alkaline phosphatase: role of zinc and magnesium. *J. Lab. clin. Med.* **55**, 303 (1960).
- Voth, D., Kohlhardt, M.: Untersuchungen zur Histomorphologie und Zytologie des menschlichen Mesothels. *Z. Zellforsch.* **58**, 546 (1962).
- Wagner, R., Meyerriecks, N., Berman, C. Z.: In vitro effects of X-radiation on white blood cells and blood platelets. *Blood* **12**, 733 (1957).
- Weissel, M., Lohmann, D.: Alkalische Leukocytenphosphatase und Blutplasma. In: W. Plenert, Aktuelle Leukocyten-Probleme, Hämatologie und Bluttransfusionswesen, Bd. 4, S. 88. Berlin: Akademie-Verlag 1966.
- Wendt, F., Budde, C.: Das Verhalten der alkalischen Leukocytenphosphatase während der Initialphase der Fieberreaktion nach der Injektion von bakteriellem Endotoxin und endogenem Pyrogen beim Menschen. *Folia haemat. (Frankfurt)*, N.F. **6**, 1 (1961).

Prof. Dr. med. Irene Boll
Städt. Krankenhaus Neukölln
D-1000 Berlin 47, Rudower Straße 56

Der Aminosäuren-Stoffwechsel des normalen menschlichen Gehirns

S. HOYER

Pathologisches Institut, Institut für Pathochemie und Allgemeine Neurochemie der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. G. Quadbeck)

Das Gehirn gehört zu den stoffwechselaktivsten Organen des Organismus. In vitro Untersuchungen haben gezeigt, daß Hirnschnitte nicht nur Glucose, sondern auch Aminosäuren für ihren oxydativen Stoffwechsel zu nutzen in der Lage sind [23, 18]. Damit hat das Hirngewebe eine Fermentaustattung, die außer einem Kohlenhydratstoffwechsel auch einen Aminosäurenstoffwechsel möglich macht. Als Gibbs et al. [9] im Jahre 1942 die Konzentration verschiedener Stoffe im arteriellen und hirnvenösen Mischblut untersuchten, fanden sie eine arteriovenöse Differenz lediglich für Glucose und Lactat. Diese Befunde konnten von anderer Seite bestätigt werden [20, 13, 26]. Durch genauere Untersuchungen mit exakteren Nachweis-

methoden haben Gottstein et al. [10] zeigen können, daß bei der Untersuchung der Hirndurchblutung und des Hirnstoffwechsels bei gefäßgesunden Menschen eine ausgeglichene Stoffwechselbilanz zwischen Sauerstoff, Glucose und Lactat besteht, d. h. ein kleiner Teil der vom Gehirn aufgenommenen Glucose wird bilanzmäßig in Lactat überführt, während der größte Teil durch Sauerstoff vollständig zu Kohlendioxyd und Wasser oxydiert wird.

Aus diesen Untersuchungen geht eindeutig hervor, daß unter physiologischen Bedingungen das menschliche Gehirn bilanzmäßig seine Energie ausschließlich aus der Oxydation von Glucose gewinnt. Da die Energiegewinnung bei der Lactatbildung durch aerobe

Glykolyse nur etwa 0,3% von der ausmacht, die bei der oxydativen Glucoseverwertung im Gehirn gewonnen wird, kann diese geringe Energiemenge normalerweise außer Betracht gelassen werden. Die ausgeglichene Stoffwechselbilanz zwischen Sauerstoff, Glucose und Lactat besagt aber nicht, daß nicht auch andere Substrate ins Gehirn gelangen können und dort verwertet werden, wobei vor allem an Aminosäuren zu denken ist, die im intermediären Stoffwechsel eine wesentliche Rolle spielen. Das Ziel unserer Untersuchungen war es daher, eine qualitative und quantitative Aussage über den Umfang des Aminosäureaustausches zwischen Blut und Gehirn beim gesunden Menschen unter Normalbedingungen zu ermitteln.

Methodik

Die Hirndurchblutung wurde mit der Stickoxydul-Methode nach Kety und Schmidt [12] in der Modifikation von Bernsmeier und Siemons [3] bestimmt. Der Sauerstoff- und Kohlendioxyd-Gehalt des Blutes wurde nach van Slyke gemessen. Der Glucosegehalt wurde substratspezifisch enzymatisch mit der Hexokinase-Zwischenfermentreaktion ermittelt. Auch die Bestimmung von Lactat erfolgte substratspezifisch enzymatisch. Zur quantitativen Messung von 19 Aminosäuren, Harnstoff und Ammoniak benutzten wir die Säulenchromatographie nach Moore und Stein [21, 22]. Das für die Analysen benötigte arterielle und hirnvenöse Mischblut wurde simultan aus der Arteria femoralis und dem Bulbus sup. ven. jug. int. gewonnen.

Vor Beginn der Hirndurchblutungsmessung wurde das Blut zur Aminosäurenbestimmung entnommen, während die Bestimmung von Sauerstoff, Kohlensäure, Glucose und Lactat aus dem über 10 min kontinuierlich mit Motorspritzen abgesaugten Blut erfolgte. Zur statistischen Ermittlung von signifikanten Unterschieden zwischen arteriellen und hirnvenösen Aminosäurenkonzentrationen wurde der Wilcoxon-Test für Paardifferenzen angewandt.

Ergebnisse

Bei 15 hirn-, kreislauf- und stoffwechselgesunden freiwilligen Versuchspersonen im Durchschnittsalter von 25 Jahren (Studenten) wurden die Hirndurchblutung, die cerebrale Aufnahme von Sauerstoff und Glucose sowie die Abgabe von Kohlensäure und Lactat ins Blut bestimmt. Für die folgenden Aminosäuren und die anderen Stickstoffverbindungen wurde die cerebrale arteriovenöse Differenz gemessen: Taurin, Harnstoff, Asparaginsäure, Threonin-Asparagin, Serin, Glutaminsäure, Prolin, Citrullin, Glycin, Alanin, Valin, Cystin, Methionin, Isoleucin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin, Ammoniak, Ornithin, Lysin und Histidin. Da Arginin nicht in allen Fällen bestimmt werden konnte, wurden die gemessenen Werte nur wiedergegeben, ohne daß sie bei der Berechnung des Gesamt-Amino-Stickstoffs berücksichtigt werden. Aus den gemessenen Werten wurde der cerebrale respiratorische Quotient RQ und der Glucose-Oxydationsquotient GOQ [11] ermittelt. Wie aus den in Tabelle 1 aufgezeigten Mittelwerten zu entnehmen ist, beträgt die Hirndurchblutung bei unserem Untersuchungsgut 52,9 ml/100 g/min, der Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureabgabe des Gehirns lagen bei 3,54 bzw. 3,77 ml/100 g/min, woraus sich ein cerebraler RQ von 1,06 berechnet. Im Durchschnitt nahm das Gehirn 4,97 mg Glucose/100 g Hirngewebe/min auf und gab 0,36 mg Lactat/100 g/min ab, das sind rund 7% der aufgenommenen Glucose. Der sich aus dem Verhältnis der Differenz von Glucose und Lactat zum Sauerstoff berechnende GOQ betrug 1,34, womit er dem theoretisch

Tabelle 1. Mittelwerte der Hirndurchblutung, der cerebralen Aufnahme von Sauerstoff und Glucose, der cerebralen Abgabe von CO₂ und Lactat bei 15 gesunden Freiwilligen; Durchschnittsalter 25 Jahre

Hirndurchblutung	52,9 ± 4,9 ml/100 g min
Sauerstoffverbrauch	3,54 ± 0,42 ml/100 g min
CO ₂ -Abgabe	3,77 ± 0,51 ml/100 g min
Glucoseaufnahme	4,97 ± 0,75 mg/100 g min
Lactatabgabe	0,36 ± 0,22 mg/100 g min
cerebraler RQ	1,06 ± 0,09
Glucose-Oxydations-Quotient (GOQ)	1,34 ± 0,17

Tabelle 2. Mittelwerte der arterio-venösen Differenzen von freien Aminoverbindungen bei den gleichen Probanden

	Arteriell (mmol/l)	Venös (mmol/l)	AV-Differenz (mmol/l)
Taurin	0,041	0,037	+0,004
Harnstoff	0,018	0,018	±0,000
Asparaginsäure	0,017	0,018	-0,001
Threonin-Asparagin	0,065	0,065	±0,000
Serin	0,121	0,136	-0,015
Glutaminsäure	0,103	0,107	-0,004
Prolin	0,066	0,066	±0,000
Citrullin	0,013	0,014	-0,001
Glycin	0,153	0,156	-0,003
Alanin	0,178	0,178	±0,000
Valin	0,124	0,118	+0,006
Cystin	0,029	0,032	-0,003
Methionin	0,001	0,001	±0,000
Isoleucin	0,036	0,037	-0,001
Leucin	0,087	0,089	-0,002
Tyrosin	0,032	0,033	-0,001
Phenylalanin	0,035	0,036	-0,001
Ammoniak	0,080	0,072	+0,008
Ornithin	0,069	0,068	+0,001
Lysin	0,098	0,103	-0,005
Histidin	0,055	0,053	+0,002
Arginin	(0,016)	(0,009)	(+0,007)
Gesamt-Amino-Stickstoff	1,402	1,435	-0,033

errechneten Wert von 1,33 gleichzusetzen ist (1 ml Sauerstoff oxydiert 1,33 mg Glucose vollständig). Die Differenzen der Mittelwerte der einzelnen Aminosäuren-Konzentrationen im arteriellen und hirnvenösen Mischblut zeigten entweder eine geringe positive Bilanz, was einer Aminosäureaufnahme ins Gehirn entsprach, oder sie wiesen eine geringfügige negative Bilanz auf, was auf eine Abgabe aus dem Gehirn schließen ließ. In einer weiteren Zahl von Fällen war eine echte Differenz nicht nachzuweisen (Tabelle 2). Eine positive Bilanz fanden wir bei Taurin, Valin, Ammoniak, Ornithin und Histidin, eine ebenso geringe negative Bilanz bei Asparaginsäure, Serin, Glutaminsäure, Citrullin, Glycin, Cystin, Isoleucin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin und Lysin.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen vermuten, daß das Gehirn normalerweise eine geringfügige Menge von Aminosäuren ins Blut abgibt, wobei die hierfür erforderlichen Aminogruppen wahrscheinlich von den basischen Verbindungen und deren positiver Bilanz Ammoniak, Ornithin und Histidin stammen dürften. Die Aminostickstoffbilanz des Gehirns bleibt damit ausgeglichen. Bei Betrachtung der hier nicht mitgeteilten Einzelwerte fiel auf, daß bei den einzelnen Aminosäuren stärkere Schwankungen zwischen cerebraler Aufnahme und Abgabe bestanden. Es handelte sich hierbei um Taurin, Threonin-Asparagin, Serin,

Glutaminsäure, Prolin, Glycin, Alanin, Valin, Ornithin, Lysin und Ammoniak. Harnstoff und die übrigen bestimmten Aminosäuren zeigten bei den von uns untersuchten Normalpersonen kaum Unterschiede in ihrer Konzentration im arteriellen und hirnvenösen Blut. Auf dieses von Fall zu Fall zwischen Aufnahme und Abgabe wechselnde Verhalten der einzelnen Aminosäuren muß auch die mitunter erhebliche Streuung der einzelnen Mittelwerte zurückgeführt werden. Ein signifikanter Unterschied zwischen der arteriellen und hirnvenösen Aminosäuren-Mittelwertkonzentration bestand in keinem Fall.

Diskussion

Ein Austausch freier Aminosäuren zwischen Blut und Gehirn kann als sicher angenommen werden [14—17]. Diese Ergebnisse stehen nicht im Widerspruch zu den Befunden von Barkulis et al. [1], wonach rd. 70% der vom Gehirn aufgenommenen Glucose zunächst in Aminosäuren überführt werden, während rd. 30% sofort direkt und vollständig zu CO₂ veratmet werden. Diese Zahlen wurden von Otsuki et al. [25] weitgehend bestätigt. Die 70% des Glucose-Kohlenstoffs, die nicht sofort veratmet werden, werden aus den im Krebscyclus gebildeten Ketosäuren durch Transaminierung zur Synthese von Aminosäuren verwandt [27, 2]. Hierbei spielt größenordnungsmäßig der Übergang von α -Ketoglutarat in Glutaminsäure die Hauptrolle. Die so gebildete Glutaminsäure wird zur γ -Aminobuttersäure (GABA) decarboxyliert. Die GABA scheint eine wesentliche Rolle im nervösen Überträgermechanismus zu spielen [5, 6]. Sie wird im weiteren Stoffwechsel desaminiert zu Bernsteinsäure-Semialdehyd, wobei die freiwerdende Aminogruppe mit α -Ketoglutarat wieder Glutamat bilden kann. Der Bernsteinsäure-Semialdehyd wird dehydriert zu Bernsteinsäure und tritt als solche wieder in den Krebscyclus ein. Der Krebscyclus verläuft somit im Gehirn in einem wesentlichen Teil über einen GABA-shunt. Da der Aminostickstoff bei diesen Vorgängen nur mit Transaminierungsreaktionen umgesetzt wird, ohne daß es zu einer Desaminierung kommt, bleibt der Aminostickstoff dem Gehirn erhalten, so daß die Aminostickstoffbilanz des Gehirns ausgeglichen sein kann.

Im Gehirn existiert ein Aminosäurepool, der im wesentlichen aus Glutamat besteht und in Form eines großen inaktiven und eines kleinen sehr aktiven Pools vorliegt [2]. Aktiver und inaktiver Anteil des Pools stehen miteinander im steady state. Lebhaftere Transaminierungsreaktionen werden auch zwischen Alanin, Aspartat und Glutamat mit den entsprechenden Ketosäuren des Tricarbonsäurecyclus gefunden. Die Bildung von Aminosäuren aus Glucose im Gehirn geschieht sehr rasch. O'Neal und Koeppel [24] fanden bereits 10 min nach Injektion radioaktiv markierter Glucose eine Aktivität in Aspartat, Glutamat und Glutamin im Gehirn, wobei die spezifischen Aktivitäten von Aspartat und Glutamat doppelt so hoch waren wie die von Glutamin.

Auch Gaitonde et al. [7] fanden 95% und mehr ¹⁴C-Aktivität aus Glucose in der trichloressigsäurelöslichen Fraktion des Gehirns wieder, wobei der größte Anteil der Radioaktivität auf die Aminosäuren-Fraktion und der kleinste auf freie Glucose entfiel. Weitere

Untersuchungen [8] haben ergeben, daß etwa 30 min nach s. c.-Applikation von U¹⁴-C-Glucose 65% im Gehirn als Aminosäuren vorlagen. Später erfolgte nur noch ein langsamer Anstieg. Nach 30 min bestand die höchste Aktivität in Glutamat mit 34%, ferner Glutamin mit 9%, Aspartat mit 8%, GABA mit 5%, Alanin mit 3%, während Serin und Glycin geringe Aktivitäten aufwiesen. Die Ergebnisse von Lindsay und Bachelard [19] lassen einen hohen initialen Einbau von ¹⁴C-Glucose in Alanin, Pyruvat und α -Ketoglutarat im Gehirn erkennen, während die Einbauraten in andere Aminosäuren des Gehirns zunächst niedrig ist, dann jedoch nach 10 min weiter ansteigt.

Es kann demnach als gesichert angesehen werden, daß Aminosäuren als Zwischenstufe des oxydativen Glucosestoffwechsels im Gehirn eine wesentliche Rolle spielen. Es besteht daher die Möglichkeit, daß außer den über den Abbau der Glucose im Krebscyclus gebildeten Aminosäuren noch weitere aus dem Blut ins Gehirn aufgenommen werden.

Unsere Ergebnisse am gesunden menschlichen Gehirn zeigen, daß zwischen Blut und Hirngewebe zwar ein Austausch von Aminosäuren stattfindet, daß dieser aber mengenmäßig nur eine untergeordnete Rolle spielt und damit normalerweise für die Hirnnahrung bzw. Energiegewinnung nicht in Frage kommt. Eine nennenswerte AV-Differenz haben wir nur bei den sog. glucoplastischen Aminosäuren gefunden, d. h. bei jenen, die aus Ketosäuren des Krebscyclus synthetisiert werden oder die über Transaminierungsreaktionen Ketosäuren des Krebscyclus bilden können.

Neuere Ergebnisse [29] haben gezeigt, daß der Liquorgehalt an freien Aminosäuren in etwa dem entspricht, wie wir ihn im hirnvenösen bzw. arteriellen Blut gefunden haben, so daß der Gehalt an freien Aminosäuren zwischen dem Liquor und dem Blut in etwa ausgeglichen sein dürfte. Der Gehalt des Gehirns an freien Aminosäuren, die hier im Pool vorliegen, ist allerdings wesentlich höher. Die Konzentration freier Aminosäuren im Gehirn ist nach den Untersuchungen von Barkulis et al. [1] im Vergleich zu den Meßergebnissen von van Sande et al. [29] und unseren Werten etwa 20mal so hoch wie im Liquor oder im hirnvenösen Mischblut.

Die von uns beobachtete Aufnahme von Ammoniak aus dem Blut ins Gehirn steht in guter Übereinstimmung mit der wenn auch nur geringfügigen Abgabe von Aminosäuren aus dem Gehirn für den Normalfall. Diese Übereinstimmung werten wir als einen wesentlichen Hinweis für eine ausgeglichene cerebrale Stickstoffbilanz. Dies gilt, im Gegensatz zu anderen von uns durchgeführten Untersuchungen an hirnorganisch Kranken, worüber noch zu berichten sein wird, für das gesunde Gehirn. Als Quelle des im Gehirn zur Aminierung der Ketosäuren und zur Synthese von Aminosäuren notwendigen Ammoniaks kommen möglicherweise zwei konkurrierende Vorgänge in Betracht. Nach den Untersuchungen von Berl et al. [2] muß Ammoniak als wesentlicher Lieferant der Aminogruppen angesehen werden, wohingegen Bessmann [4] mitteilte, daß Glutamin als Aminogruppen-Donator in Frage kommt. Von uns war deshalb diese Frage nicht eindeutig zu entscheiden, da bei dem verwendeten Analyseverfahren das von uns nachgewiesene Ammoniak auch aus Glutamin stammen kann, woraus es durch Desaminierung freigesetzt wurde.

Die für das gesunde menschliche Gehirn beobachtete Abgabe von Aminosäuren an das Blut hat nicht nur hinsichtlich der ausgeglichenen Stickstoffbilanz eine Bedeutung, sondern besitzt auch einen großen funktionellen Wert. Es kann angenommen werden, daß die cerebralen Aminosäuren-Pools immer überschüssig gefüllt gehalten werden, so daß unter normalen Bedingungen die konstante cerebrale Glucoseaufnahme und damit auch der konstante Stoffwechsel der Aminosäuren-Vorläufer zu einem gleichmäßigen Einstrom von Aminosäuren in die Pools führt. Dieser Einstrom ist offensichtlich gering größer als die normalerweise aus den Pools stattfindende Abgabe für funktionelle oder strukturelle Aufgaben, so daß letztlich der „Überschuß“ abgegeben wird, der im hirnenösen Blut und im Liquor nachzuweisen ist. Dieser Mechanismus erscheint uns auch deshalb so sinnvoll, weil er bei plötzlichen energetischen Mehranforderungen sofort einen erhöhten Bedarf ausgleichen kann, ohne daß das Gehirn in eine Notsituation gerät.

Zusammenfassung. Bei 15 gesunden freiwilligen Versuchspersonen haben wir die Hirndurchblutung, die cerebrale Aufnahme von Sauerstoff und Glucose sowie die Abgabe von Kohlensäure und Lactat aus dem Gehirn gemessen. Ferner wurden die cerebralen arteriovenösen Differenzen von Taurin, Harnstoff, Asparaginsäure, Threonin-Asparagin, Serin, Glutaminsäure, Prolin, Citrullin, Glycin, Alanin, Valin, Cystin, Methionin, Isoleucin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin, Ammoniak, Ornithin, Lysin und Histidin bestimmt. Die für den Normalfall ermittelten Werte von Hirndurchblutung, Sauerstoff- und Glucoseverbrauch des Gehirns sowie Abgabe von Kohlensäure und Milchsäure aus dem Gehirn stimmen mit denen anderer Untersucher überein. Die Differenzen der Aminosäurenkonzentrationen zwischen arteriellem und hirnenösem Mischblut zeigten im Durchschnitt entweder eine positive (Aufnahme), negative (Abgabe) oder keine Differenz. Lediglich die sog. glucoplastischen Aminosäuren zeigten eine größere cerebrale arteriovenöse Differenz. Unter normalen Bedingungen findet zwar ein Austausch von Aminosäuren zwischen Blut und Hirngewebe statt, die entscheidende Bildung von Aminosäuren erfolgt jedoch erst im Gehirn in dem um einen γ -Aminobuttersäure-shunt erweiterten Krebscyclus. Normalerweise werden in die beiden im Gehirn befindlichen Aminosäurepools mehr Aminosäuren eingeschleust als für funktionelle oder strukturelle Aufgaben notwendig ist, so daß der „Überschuß“ aus dem Gehirn abgegeben wird.

Summary. In 15 healthy volunteers we measured cerebral blood flow, the uptake of oxygen and glucose, and the output of CO_2 and lactate of the brain. Furtheron we determined the cerebral arterio-venous differences of taurine, urea, aspartate, threonine-asparagine, serine glutamic acid, proline, citrulline glycine, alanine, valine, cystine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, ammonia, ornithine, lysine, and histidine. The normal values of cerebral blood flow, uptake of oxygen and glucose, and the output of CO_2 and lactate agreed with those reported by other investigators. Differences of the mean concentrations of the amino-acids between arterial and venous blood of the internal jugular bulb were positive (uptake) as well as negative (output) or there was no

difference at all. Under normal conditions we found a small exchange of amino acids between blood and brain. The main formation of amino acids in the brain, however, is accounted for by the combined activity of the Krebs cycle and the GABA-shunt. Normally, more amino acids are synthesized than required by the two cerebral amino acid pools for maintaining the structural and functional tasks of the brain, the excess amino acids being released into the venous blood.

Literatur

1. Barkulis, S. S., Geiger, A., Kawakita, Y., Aguilar, V.: A study on the incorporation of ^{14}C derived from glucose into the free amino acids of the brain cortex. *J. Neurochem.* **5**, 339 (1960).
2. Berl, S., Takagaki, G., Clarke, D. D., Waelsch, H.: Metabolic compartments in vivo. Ammonia and glutamic acid metabolism in brain and liver. *J. biol. Chem.* **237**, 2562 (1962).
3. Bernsmeier, A., Siemons, K.: Die Messung der Hirndurchblutung mit der Stickoxydulmethode. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **258**, 149 (1953).
4. Bessman, S. P.: Ammoniacogenic coma: the chemistry of an endogenous intoxication. In: *Proceed. IV. Intern. Congr. Biochem.* Vienna 1958. New York-London-Paris-Los Angeles: Pergamon Press 1959.
5. Elliot, K. A. C.: γ -aminobutyric acid and factor I. *Rev. canad. Biol.* **17**, 367 (1958).
6. Florey, E., Florey, E.: Studies on the distribution of factor I in mammalian brain. *J. Physiol. (Lond.)* **144**, 220 (1958).
7. Gaitonde, M. K., Marchi, S., Richter, D.: The utilization of glucose in the brain and other organs of the cat. *J. Physiol. (Lond.)* **168**, 48 (1963).
8. — Dahl, D. R., Elliot, K. A. C.: Entry of glucose carbon into amino acids of rat brain and liver in vivo after injection of uniformly ^{14}C -labelled glucose. *Biochem. J.* **94**, 345 (1965).
9. Gibbs, E. L., Lennox, W. G., Nims, L. F., Gibbs, F. A.: Arterial and cerebral venous blood (arterial-venous differences in man). *J. biol. Chem.* **144**, 325 (1942).
10. Gottstein, U., Bernsmeier, A., Sedlmeyer, I.: Der Kohlenhydratstoffwechsel des menschlichen Gehirns. I. Untersuchungen mit substratspezifischen enzymatischen Methoden bei normaler Hirndurchblutung. *Klin. Wschr.* **41**, 943 (1963).
11. Hoyer, S., Becker, K.: Hirndurchblutung und Hirnstoffwechselbefunde bei neuropsychiatrisch Kranken. *Nervenarzt* **37**, 322 (1966).
12. Kety, S. S., Schmidt, C. F.: The nitrous oxide method for the quantitative determination of cerebral blood flow in man: theory, procedure and normal values. *J. clin. Invest.* **27**, 476 (1948).
13. — The general metabolism of the brain in vivo. In: D. Richter, *Metabolism of the nervous system*. London: Pergamon Press 1957.
14. Lajtha, A., Furst, S., Gerstein, A., Waelsch, H.: Amino acid and protein metabolism of the brain. — I. Turnover of free and protein bound lysine in brain and other organs. *J. Neurochem.* **1**, 289 (1957).
15. — Amino acid and protein metabolism of the brain. — II. The uptake of L-lysine by brain and other organs of the mouse at different ages. *J. Neurochem.* **2**, 209 (1958).
16. — Berl, S., Waelsch, H.: Amino acid and protein metabolism of the brain. — IV. The metabolism of glutamic acid. *J. Neurochem.* **3**, 322 (1959).
17. — Amino acid and protein metabolism of the brain. — V. Turnover of leucine in mouse tissues. *J. Neurochem.* **3**, 358 (1959).
18. Levi, G., Kandra, J., Lajtha, A.: Control of cerebral metabolite levels. I. Amino acid uptake and levels in various species. *Arch. Biochem.* **119**, 303 (1967).
19. Lindsay, J. R., Bachelard, H. S.: Incorporation of ^{14}C from glucose into α -keto acids and amino acids in rat brain and liver in vivo. Effects of neurotropic drugs on glucose metabolism in rat brain in vivo. *Biochem. Pharmacol.* **15**, 1045 (1966).
20. McIlwain, H.: *Biochemistry and the central nervous system*. London: Churchill 1955.

21. Moore, S., Stein, W. H.: Procedures for the chromatographic determination of amino acids on four per cent cross-linked sulfonated polystyrene resins. *J. biol. Chem.* **211**, 893 (1954).
22. — — A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J. biol. Chem.* **211**, 907 (1954).
23. Neame, K. D.: Uptake of l-histidine, l-proline, l-tyrosine and l-ornithine by brain, intestinal mucosa, testis, kidney, spleen, liver, heart muscle, skeletal muscle and erythrocytes of the rat in vitro. *J. Physiol. (Lond.)* **162**, 1 (1962).
24. O'Neal, R. M., Koeppe, R. E.: Precursors of the acidic amino acids of rat brain. *Fed. Proc.* **23**, 333 (1963).
25. Otsuki, S., Watanabe, S., Ninomiya, K., Hoaki, T., Okumura, N.: Correlation between [^{14}C] glucose metabolism and function in perfused cat brain. *J. Neurochem.* **15**, 859 (1968).
26. Rodnight, R., McIlwain, H., Tresize, M. A.: Analysis of arterial and cerebral venous blood from the rabbit. *J. Neurochem.* **3**, 209 (1959).
27. Sacks, W.: Cerebral metabolism of doubly labelled glucose in humans in vivo. *J. appl. Physiol.* **20**, 117 (1965).
28. Berg, C. J. van den, Krzalic, L. J., Mela, P., Waelsch, H.: Compartmentation of glutamate metabolism in brain. Evidence for the existence of two different tricarboxylic acid cycles in brain. *Biochem. J.* **113**, 281 (1969).
29. Sande, M. van, Mardens, Y., Andriaessens, K., Lowenthal, A.: The free amino acids in human cerebrospinal fluid. *J. Neurochem.* **17**, 125 (1970).

Dr. S. Hoyer
Institut für Pathochemie und
Allgemeine Neurochemie der Universität
D-6900 Heidelberg, Berliner Str. 5

Kurze wissenschaftliche Mitteilungen

Das Verhalten des freien Plasmacortisols während extracorporaler Hämodialyse

E. KNAPP, E. STAUDINGER und P. DITTRICH
Medizinische Universitätsklinik Innsbruck
(Vorstand: Prof. Dr. H. Braunsteiner)

Eingegangen am 16. April 1970

In einer früheren Mitteilung [8] wurde festgestellt, daß während der extracorporalen Hämodialyse des Plasmacortisol nach kurzfristigem Abfall zu Beginn am Ende der Dialyse wiederum den morgendlichen Ausgangswert erreicht. Auf Grund der unterschiedlichen Angaben über das Verhalten dieser Substanz während der Hämodialyse [1—3, 11—15, 17—20] und der Angaben über Oscillationen [4—6] lag es nahe, den Einfluß der extracorporalen Hämodialyse auf das freie Plasmacortisol in kurzen Abständen zu untersuchen.

Material und Methodik

Die Untersuchungen wurden an sieben seit mehreren Monaten in Dauerdialysebehandlung stehenden Patienten durchgeführt. Die Blutabnahmen erfolgten am Tag vor der Dialyse und am Dialysetag ab 8 Uhr stündlich bis 17 Uhr. Die Dialysen wurden mit Cuprophanspulen in einer Travenol-Standard-Niere durchgeführt, der Waschwasserwechsel erfolgte alle 90 min, die Dialysedauer betrug 8 Std.

Die Bestimmung des freien Plasmacortisols erfolgte in Doppelbestimmungen nach der Methode von DeMoor [7, 10, 16], die in geringer Weise von uns abgeändert wurde [8].

Die statistische Berechnung wurde mit der Varianzanalyse durchgeführt. Die Streuungshomogenitätsprüfung erfolgte mittels Bartlett-Test, der Vergleich der Mittelwerte mittels Test nach Duncan [9, 21].

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in Abb. 1 dargestellt. Die Ausgangswerte um 8 Uhr unterscheiden sich am Dialysetag nicht vom Vortag. Bereits nach 1 Std unterscheiden sich die Werte signifikant und liegen am Dialysetag niedriger ($p < 0,01$). An den dialysefreien Tagen erreicht das Plasmacortisol um 10 Uhr einen Wert, der bis ungefähr 14 Uhr gleich bleibt, um dann gegen 17 Uhr hin weiter abzufallen ($p < 0,01$).

Während der Hämodialyse kommt es 2 Std nach Beginn zu einem neuerlichen Anstieg, der 3 Std nach Beginn der Dialyse bereits signifikant ist ($p < 0,01$). Nach ungefähr 4 Std ist der Ausgangswert erreicht und es kommt zu einem neuerlichen Abfall, der jedoch nicht so ausgeprägt ist wie 2 Std nach Dialysebeginn ($p < 0,01$). 6 Std nach Dialysebeginn kommt es wieder zu einem signifikanten Anstieg ($p < 0,01$), der den Ausgangswert erreicht.

Diskussion

Die Morgenwerte des freien Plasmacortisols scheinen bei chronisch Niereninsuffizienten in normalen Bereichen zu liegen. Das stimmt mit den Befunden anderer Autoren überein [2, 10—12].

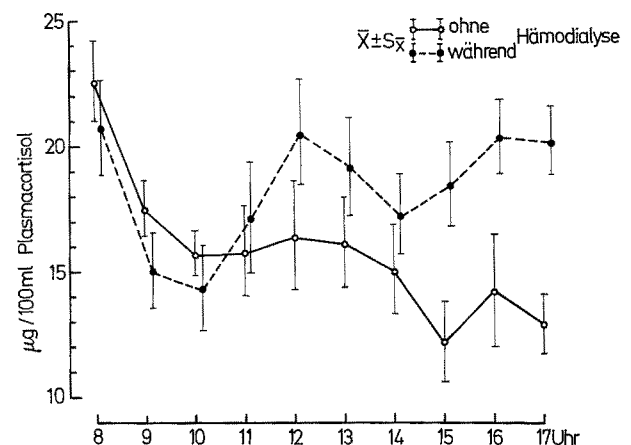


Abb. 1. Mittelwerte des Plasmacortisolspiegels ohne und während extracorporaler Hämodialyse bei 7 Patienten mit chronischem Nierenversagen. Dialysedauer von ca. 8—17 Uhr

Durch die Hämodialyse kommt es bereits nach 1 Std zu einem signifikanten Abfall unter die Werte an dialysefreien Tagen. Dies bestätigt, daß es durch die Dialyse zu einem Übertritt des freien Plasmacortisols in das Dialysat kommt [4—6, 17, 19]. Der einsetzende Gegenregulationsmechanismus bewirkt eine vermehrte Produktion von Cortisol durch Ausschüttung von ACTH. Die diskutierte Erhöhung des Hydrocortisonspiegels durch Verlust an Körpergewicht durch Ultrafiltration und dadurch Stimulation der NNR durch Volumverlust [13] oder fälschlich hohe Cortisolspiegel durch Blutverdickung scheint durch das Auftreten von Schwankungen mit ungefähr 4stündiger Periodendauer widerlegt. Diese Periodendauer stimmt mit der von Deck [5, 6] angegebenen Oscillationsdauer überein.

Der 4 Std nach Beginn der Dialyse folgende erneute Abfall des Plasmacortisols ist nicht mehr so ausgeprägt und nach weiteren 4 Std ist der Ausgangswert wieder erreicht. Eine kürzere Periodendauer konnte bei den Einzelprofilen nicht beobachtet werden.

Zusammenfassung. Durch die extracorporale Hämodialyse kommt es zu einer Ausscheidung des freien Plasmacortisols in das Dialysat. Dies bewirkt ein stärkeres Absinken des Plasmacortisolspiegels, was einen Gegenregulationsmechanismus auslöst, der über vermehrte ACTH-Ausschüttung zur vermehrten Cortisolproduktion in einem ungefähr vierstündigen Rhythmus führt.

Summary. In the course of hemodialysis, free plasma cortisol is excreted into the dialysate, provoking a considerable decrease of plasma cortisol levels. A counterregulation mechanism results which, in turn, leads to increased ACTH secretion and subsequently increased cortisol production at an approximately 4 hours' rhythm.