

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Beziehungen zwischen Funktion und Stoffwechsel des Zentralnervensystems nach Pervitin

Von F. HEIM, F. LEUSCHNER und K.-J. ESTLER*

Die bisher über Beziehungen zwischen Funktion und Stoffwechsel des Zentralnervensystems vorliegenden Untersuchungen behandeln besonders die mit wechselndem Funktionszustand einhergehenden Änderungen der Hirnatmung, des anaeroben und aeroben Umsatzes der Kohlenhydrate, des Gehalts an energiereichen organischen Phosphatestern und anorganischem Phosphat im Gehirn. Durch die Oxydation der Kohlenhydrate wird der Hauptanteil der für die Erhaltung der Struktur und Funktion des Zentralnervensystems notwendigen Energie gedeckt. ATP dient dabei als die unmittelbare Energiequelle, während Kreatinphosphat seine Energie durch ATP überträgt, indem es ADP zu ATP rephosphoryliert. Deshalb tritt nach DAWSON und RICHTER¹, ABOOD, KUN und GEILING², sowie KRATZING und NARAYANASWAMI³ bei grossem ATP-Verbrauch erst dann ein rascher Abfall der ATP-Konzentration im Gehirn auf, wenn das Kreatinphosphat weitgehend verbraucht ist. Der nach intrazisternaler Einführung von radioaktivem Phosphat gemessene Umsatz von ATP und Kreatinphosphat im Gehirn liegt nach LINDBERG und ERNST⁴ mit 40 µg/g/min im Gehirn etwas höher als in der Leber und Muskulatur. Die Angaben über den ATP-Gehalt des Gehirns sind auch in neueren Arbeiten sehr unterschiedlich. Sie betragen, wahrscheinlich abhängig von der verwendeten Tierspezies, den jeweils untersuchten Hirnabschnitten, dem der Tötung vorausgegangenen Erregungszustand der Tiere, der Tötungsart, der Geschwindigkeit des Einfrierens und den angewandten Bestimmungsmethoden 75 bis 650 µg ATP/g Feuchtgewicht (ALBAUM und CHINN⁵; ALBAUM, NOELL und CHINN⁶; KRATZING und NARAYANASWAMI³; LEBEDEVAT, MASLOWA und ROZENGART⁷; PALLADINE⁸; STONER und THRELFALL⁹).

Die für Untersuchungen über Beziehungen zwischen Funktion und Stoffwechsel des Zentralnervensystems notwendigen Änderungen des Erregungszustandes des Zentralnervensystems wurden erzielt entweder durch Hemmung der Funktion (Narkotika), der Atmungsfermente (Cyanide), des Substratangebots (Ischämie und Anoxie) oder durch funktionssteigernde Massnahmen (elektrische Hirnreizung, zentral erregende Mittel wie

Strychnin, Pikrotoxin, Kardiazol und Pervitin). Nach HUNTER und LOWRY¹⁰, sowie SCHMIDT¹¹ besteht die primäre Wirkung der Narkotika in der Herabsetzung der Neuronenaktivität, die zur Senkung des ATP-Verbrauchs und diese wieder zur Atmungseinschränkung führt. Als Ausdruck des vermindernten Energiebedarfs sind nach STONE¹², sowie RICHTER und DAWSON¹; PALLADINE⁸; McILWAIN, BUCHEL und CHESHIRE¹³; ALBAUM, NOELL und CHINN⁶; McILWAIN¹⁴ sowie RICHTER¹⁵ in der Narkose der Glykogen-, Phosphokreatin- und ATP-Gehalt des Gehirns erhöht, Sauerstoffverbrauch, Milchsäurebildung und anorganische Phosphate dagegen vermindert. Die Senkung des Sauerstoffverbrauchs wird als Folge der Senkung des ATP-Bedarfs, die Erhöhung des ATP- und Phosphokreatingehalts des Gehirns trotz Sauerstoffverbrauchsabnahme als Zeichen des Überwiegens der synthetischen über die abbauenden Reaktionen beurteilt (SCHMIDT¹¹). Nach DÖRING und GERLACH¹⁶ bewirken Narkotika keine Konzentrationszunahme, sondern nur eine Stabilisierung der energiereichen Phosphate im Gehirn, wie sich aus Unterschieden zwischen Versuchen an nicht narkotisierten und narkotisierten, dekapitierten bzw. eingefrorenen Ratten ergeben hat. Anoxie führt nach ALBAUM, NOELL und CHINN⁶ an Kaninchen und Ratten bereits nach 70 s zur signifikanten Abnahme von ATP und Kreatinphosphat und Zunahme von Milchsäure und anorganischem Phosphat im Gehirn. Zu qualitativ gleichen Ergebnissen kamen GROMOVA, KUDRIKAJA, PETROV und SAPOT¹⁷ bei Erzeugung einer Hirnischämie durch Unterbindung beider Karotiden von Albinoratten. Cyanide verursachen nach Befunden von ALBAUM, TEPPERMAN und BODANSKY¹⁸ einen Übergang von der oxydativen zur anoxydativen Energiegewinnung mit Anstieg der Milchsäure-, Hexosediphosphat- und Phosphobrenztraubensäurekonzentration, Abnahme des ATP- und Phosphokreatingehalts bei gleichzeitiger Zunahme des ADP- und anorganischen Phosphats im Gehirn.

Zur Erzielung einer Funktionssteigerung des Zentralnervensystems wurden von KLEIN und OLSEN¹⁹, sowie DAWSON und RICHTER¹ elektrische Reize, von STONE¹² sowie STONE, WEBSTER und GURDJIAN²⁰ zentral erregende Pharmaka in krampferzeugenden Intensitäten bzw. Konzentrationen verwendet. Entsprechend der Dauer der Krampfzustände fielen im Gehirn der Gehalt an Glukose, Glykogen, ATP und Kreatinphosphat ab, während Milchsäure und anorganische Phosphate zu-

* Pharmakologisches Institut der Universität Erlangen.
1 D. RICHTER und R. M. C. DAWSON, Amer. J. Physiol. 154, 73 (1948).

² L. G. ABOOD, E. KUN und M. K. GEILING, J. Pharmacol. exp. Therap. 98, 373 (1950).

³ C. C. KRATZING und NARAYANASWAMI, Biochem. J. 54, 317 (1954).

⁴ O. LINDBERG und L. ERNST, Biochem. J. 46, 43 (1950).

⁵ H. G. ALBAUM und H. CHINN, Amer. J. Physiol. 174, 141 (1953).

⁶ H. G. ALBAUM, W. K. NOELL und H. CHINN, Amer. J. Physiol. 174, 408 (1953).

⁷ E. M. LEBEDEVAT, M. N. MASLOVA und V. D. ROZENGART, Dokl. Akad. Nauk SSSR. 102, 563 (1955).

⁸ A. V. PALLADINE, Ukrainian Biochem. J. 26, 112 (1954); Biochimia. Nervoi. Systemi. Kiev. 1954; Wien. Klin. Wschr. 1954, 473.

⁹ H. B. STONER und C. J. THRELFALL, Biochem. J. 58, 115 (1954).

¹⁰ E. E. HUNTER und O. H. LOWRY, Pharmacol. Rev. 8, 116 (1956).

¹¹ C. G. SCHMIDT in: FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ, Physiologische Chemie, II 2a (Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956), S. 813.

¹² W. STONE, Biochem. J. 32, 1908 (1938); J. biol. Chem. 135, 43 (1940).

¹³ H. McILWAIN, L. BUCHEL und I. D. CHESHIRE, Biochem. J. 48, 12 (1951).

¹⁴ H. McILWAIN, Brit. med. Bull. 6, 301 (1950); Biochem. Soc. Sympos. 8, 27 (1952).

¹⁵ D. RICHTER, Biochem. Soc. Sympos. 8, 62 (1952).

¹⁶ H. J. DÖRING und E. GERLACH, Verh. deutsch. pharmak. Ges., Freiburg 1957.

¹⁷ K. G. GROMOVA, T. E. KUDRIKAJA, I. R. PETROV und V. S. SAPOT, Biochimia 17, 13 (1952).

¹⁸ H. G. ALBAUM, J. TEPPERMAN und O. BODANSKY, J. biol. Chem. 164, 45 (1946).

¹⁹ I. R. KLEIN und N. S. OLSEN, J. biol. Chem. 167, 747 (1947).

²⁰ W. STONE, J. WEBSTER und E. GURDJIAN, J. Neurophysiol. 8, 233 (1945).

nahmen. *In-vitro*-Versuche von McILWAIN und GORE²¹ sowie KRATZING²² an elektrisch gereizten Schnitten von Mäuse- und Meerschweinchenhirn ergaben eine Zunahme der Atmung, Milchsäurebildung, des ADP und anorganischen Phosphats, während ATP und Kreatinphosphat abnahmen. Im Gegensatz zu den angeführten Reizversuchen am Zentralnervensystem führen nach Beobachtungen von LEBEDEVAT, MASLOVA und ROZENGART²³ durch Pikrotoxin, Kardiazol und elektrische Hirnreizung erzeugte Krämpfe, bei Aufrechterhaltung einer normalen Hirndurchblutung, nicht zu signifikanten Änderungen der Hirnkonzentration an energiereichen Phosphaten.

Abhängig von der Art und Stärke der Reizung des Zentralnervensystems wurden neben Senkungen auch Steigerungen der Hirnkonzentration an energiereichen Phosphaten beobachtet. DAWSON und RICHTER¹ fanden im Gehirn von Ratten, die durch Rotationen in einer Trommel erregt worden waren, eine signifikante Zunahme des Kreatinphosphats. PALLADINE und RYBINA²⁴, sowie PALLADINE⁸ beobachteten an Kaninchen nach 5–10 mg/kg Pervitin in der ersten Stunde einen Abfall und in den folgenden drei Stunden eine Erhöhung des ATP-Gehalts des Gehirns über den Ausgangswert. Mit Hilfe von radioaktivem Na-Phosphat konnte PALLADINE⁸ nach Pervitin auch eine Zunahme des ATP-Umsatzes im Gehirn nachweisen. CHAJKINA, GONCAROVA und MICHAJLOVSKAJA²⁴ haben nach 5–10 mg/kg Pervitin eine Zunahme des Glykogengehalts und der Phosphorylaseaktivität im Gehirn von Kaninchen festgestellt.

Die Beobachtungen von DAWSON und RICHTER¹ sowie PALLADINE⁸, dass Formen der Erregung des Zentralnervensystems, die nur zur Steigerung der psychomotorischen Erregbarkeit der Tiere, nicht aber zu Krämpfen und Durchblutungsstörungen führen, den Gehalt des Zentralnervensystems an energiereichen Phosphaten erhöhen, haben uns veranlasst, an weissen Mäusen den Einfluss kleiner Pervitindosen (2–3 µg/g Körpergewicht), deren Wirkungscharakter einer physiologischen Erregung vielleicht am meisten entspricht, auf den ATP-Gehalt des Gehirns innerhalb der ersten sechs Stunden nach Pervitin zu untersuchen und mit gleichzeitig auftretenden Änderungen des Gesamtsauerstoffverbrauchs, der Motilität, Atemfrequenz und Rektaltemperatur zu vergleichen. Die Änderungen von Sauerstoffverbrauch, Motilität und Atmung dienten uns dabei als quantitativer Gradmesser für den jeweiligen Erregungszustand des Zentralnervensystems.

Wegen der Bedeutung des Coenzym A im Energiestoffwechsel und dessen enger Beziehung zum ATP-Umsatz haben wir gleichzeitig die Coenzym-A-Aktivität im Gehirn und ausserdem in Leber und Herzmuskel bestimmt. Coenzym A ist zur Überführung der Spaltprodukte des Zuckers und der Fettsäuren in den Zitronensäurezyklus und damit zur oxydativen Energiegewinnung notwendig. Deshalb sind die meisten energieerfordern Prozesse, so auch die Regeneration des ATP, Kreatinphosphats und Azetylcholins, einer mit der Hirnfunktion und dem Hirnstoffwechsel eng verbundenen Überträgersubstanz, an die Anwesenheit von Coenzym A gebunden. Umgekehrt wird ATP zum Aufbau des Coenzym-A-SH aus seinen Vorstufen und zur

²¹ H. McILWAIN und M. B. R. GORE, Biochem. J. 50, 24 (1951); 54, 305 (1953).

²² C. C. KRATZING, Biochem. J. 54, 312 (1953).

²³ A. V. PALLADINE und A. A. RYBINA, Dokl. Akad. Nauk SSSR. 97, 903 (1953).

²⁴ B. I. CHAJKINA, E. E. GONCAROVA und L. A. MICHAJLOVSKAJA, Dokl. Akad. Nauk SSSR. 96, 347 (1954).

Bildung des energiereichen Azetyl-Coenzym A und Phosphoryl-Coenzym A benötigt.

Methodik. Die Bestimmung der Motilität, der Sauerstoffaufnahme und der Rektaltemperatur erfolgte in der von HEIM und HAAS²⁵ angegebenen Weise. Als Mass der Motilität diente die von den Tieren in der Zeiteinheit zurückgelegte Wegstrecke. Zur Messung der Atemfrequenz durch Auszählen mit der Stoppuhr kamen die Tiere in kleine, aus durchsichtigem Zelloid hergestellte zylindrische Gefäße. Die Raumtemperatur betrug 24°.

Die ATP-Bestimmung im ganzen Gehirn erfolgte nach einer von LEUSCHNER und ESTLER²⁶ angegebenen Methode: Der Trichloressigsäureextrakt aus eingefrorenem Mäusegehirn wurde in Anlehnung an das Verfahren von EGGLESTON und HEMS²⁷ papierchromatographisch aufgetrennt. Für die quantitative Erfassung des ATP eignet sich der Phosphorgehalt nicht. Mit grosser Empfindlichkeit gelingt die Bestimmung dagegen mit einem Fermentsystem nach FELDBERG und MANN²⁸ zur enzymatischen Azetylcholinsynthese.

Die Bestimmung des Coenzym A in Gehirn, Herzmuskel und Leber erfolgt nach der Methode von KAPLAN und LIPMANN²⁹, die allerdings nicht ausschliesst, dass bei der Bestimmung ausser intaktem Coenzym A seine biologischen Vorstufen miterfasst werden. Zur Erstellung der Eichkurven wurde ein Präparat mit einem Gehalt von 75% reinem Coenzym A verwendet.

Versuchsergebnisse. In Abbildung 1a wurden die durch 2–3 µg/g Pervitin hervorgerufenen Veränderungen der Motilität, Sauerstoffaufnahme, Atemfrequenz und Rektaltemperatur, in Abbildung 1b die nach gleichen Pervitingaben beobachteten Änderungen des ATP-Gehalts des Gehirns und der Coenzym-A-Aktivität in Gehirn, Leber und Herz aufgetragen. Die 1 und 3 h nach der Pervitingabe für Motilität, Sauerstoffverbrauch, Atemfrequenz, ATP- und Coenzym-A-Gehalt im Gehirn und Herz gefundenen Werte sind auf Grund der errechneten Verteilung und der daraus ermittelten Wahrscheinlichkeit gegenüber den Ausgangswerten signifikant erhöht. Die 3 h nach Pervitin gemessene Coenzym-Aktivität der Leber ist gegenüber dem Leerwert signifikant erhöht, der 1- und 6-Stunden-Wert dagegen nicht. Die Rektaltemperatur sinkt nach Pervitin im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Funktionen ab und erreicht erst nach 12–24 h den Ausgangswert.

Nach unseren Befunden lösen 2–3 µg Pervitin/g Maus eine zentrale Erregung mit Funktionsänderungen aus, die nach Art und Stärke die physiologischen Grenzen nicht überschreiten. Sie gehen mit einer dem Erregungsgrad entsprechenden Zunahme der absoluten ATP-Konzentration im Gehirn einher³⁰. Im Gegensatz dazu sinkt, wie die oben erwähnten Befunde anderer Autoren gezeigt haben, nach unphysiologisch starker Reizung des

²⁵ F. HEIM und B. HAAS, Arch. exp. Path. Pharmak. 226, 395 (1955).

²⁶ F. LEUSCHNER und K. J. ESTLER, Hoppe-Seylers Z. 308, 141 (1957).

²⁷ L. V. EGGLESTON und R. HEMS, Biochem. J. 52, 156 (1952).

²⁸ W. FELDBERG und T. MANN, J. Physiol. 104, 411 (1946).

²⁹ N. O. KAPLAN und F. LIPMANN, J. biol. Chem. 174, 37 (1948).

³⁰ Anmerkung bei der Korrektur. Der Anstieg der ATP-Konzentration im Gehirn von pervitinerregten Mäusen konnte durch Kontrolluntersuchungen mit dem optischen Fermenttest zur ATP-Bestimmung nach TH. BÜCHER, Adv. Enzymol. 14, 1 (1953), der aus der Hauptreaktion $\text{D}(-)\text{-3-Phosphoglycerinsäure} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{D}-1,3\text{-Diphosphoglycerinsäure} + \text{ADP}$ und der Hilfsreaktion $\text{D}-1,3\text{-Diphosphoglycerinsäure} + \text{DPN-H} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{D}(+)\text{-Glycerinaldehyd-3-phosphorsäure} + \text{anorganisches Phosphat} + \text{DPN}^+$ besteht, bestätigt werden. Unterschiedlich erwies sich lediglich der höhere normale Ausgangswert und ein relativ höher liegender 6-Stunden-Wert nach der Injektion.

Zentralnervensystems dessen ATP-Gehalt ab. Vermutlich wird unter physiologischen Erregungsänderungen die oxydative Phosphorylierung im Gehirn so gesteigert, dass die ATP aufbauenden die energieverbrauchenden Stoffwechselvorgänge überwiegen und dabei das Gehirn seine ATP-Reserven erhöht. Unter Krämpfen dagegen liegen die Verhältnisse wahrscheinlich umgekehrt.

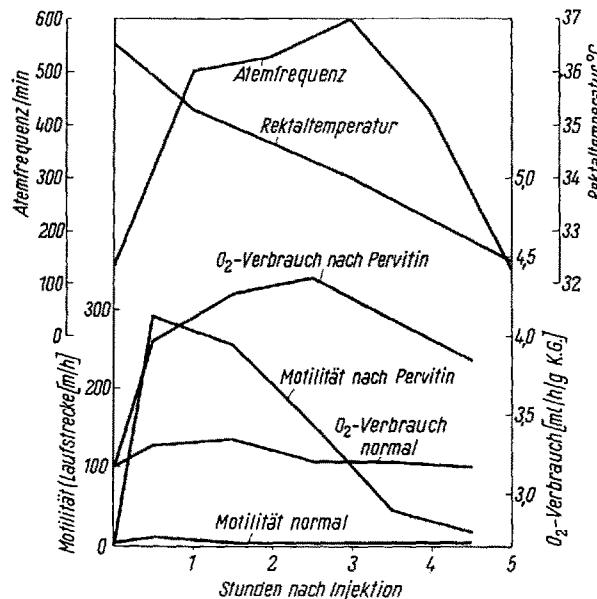


Abb. 1a. Mittelwerte der Motilität, Sauerstoffaufnahme, Atemfrequenz und Rektaltemperatur weisser Mäuse ($N = 32$) nach 2–3 μg Pervitin/g subkutan. O_2 -Verbrauch reduziert auf 0°C und 760 mm Hg

Azetylcholin ist ein Überträgerstoff innerhalb des Zentralnervensystems. Erregung führt, wie ELLIOT, SWANK und HUNDERSON³¹, sowie DAWSON und RICHTER¹ gezeigt haben, zu einer Zunahme des Azetylcholinverbrauchs im Gehirn. Die Resynthese des Azetylcholins er-

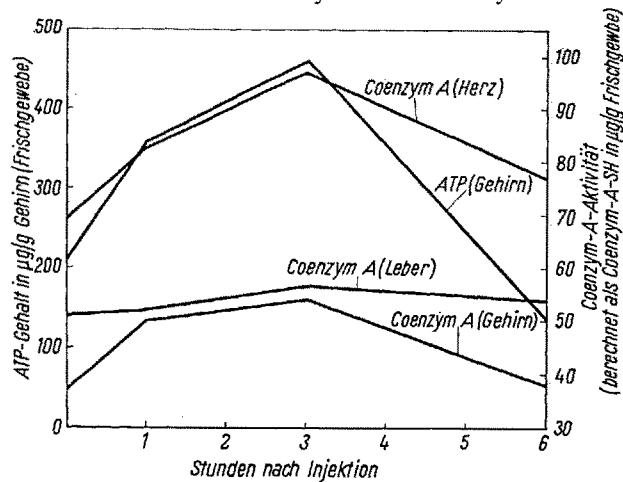


Abb. 1b. Mittelwerte der Konzentrationen von ATP im Gehirn ($N = 40$) und Coenzym-A in Gehirn, Herz und Leber ($N = 32$) weisser Mäuse nach 2–3 μg Pervitin/g subkutan.

folgt unter ATP-Verbrauch. Vielleicht erklärt sich die mit dem Anwachsen der Erregung proportionale Zunahme des ATP im Gehirn teilweise aus dem Umstand,

dass es in erhöhtem Masse zur Resynthese des Azetylcholins benötigt wird.

Die von uns beobachtete, vom Erregungsgrad abhängige Erhöhung der Coenzym-A-Aktivität im Gehirn steht vermutlich im ursächlichen Zusammenhang mit der Zunahme der ATP-Konzentration. Da die zum ATP-Aufbau benötigte Energie bei ausreichender Blut- und Sauerstoffversorgung zum grössten Teil über den oxydativen Abbau der Glukose gewonnen wird, ist das Coenzym A durch die Überführung der beim Abbau der Kohlenhydrate und Fette entstandenen Karbonsäuren in den Zitronensäurezyklus indirekt und durch die Synthese von ATP während der Spaltung von Succinyl-Coenzym A direkt am ATP-Aufbau beteiligt. Andererseits geht der Aufbau des Coenzym A unter Verbrauch von ATP einher, so dass die Zunahme an Coenzym A nur möglich sein dürfte, wenn genügend ATP zur Verfügung steht.

Die Zunahme der Coenzym-A-Aktivität im Herzmuskel ist vermutlich als ein Zeichen der Steigerung des oxydativen Stoffwechsels im Herzen zu bewerten. Die Zunahme der Motilität und Atemfrequenz unter Pervitin erfordert eine erhebliche Mehrleistung des Herzens. Da die ATP-Spaltung als die wesentliche Energiequelle der Kontraktion des Herzmuskels angesehen wird (SZENT GYÖRGYI³²), wird durch die Zunahme an Coenzym A die Geschwindigkeit der oxydativen Phosphorylierungsvorgänge wahrscheinlich beschleunigt und damit die Leistungsfähigkeit des Herzens verbessert. Die Coenzym-A-Aktivität der Leber nimmt im Gegensatz zu Gehirn und Herzmuskel unter Pervitin wenig zu. Die Leber ist funktionell an den durch Pervitin ausgelösten Erregungsprozessen sicher weniger beteiligt als Zentralnervensystem und Kreislauf.

Die durch Pervitineregung ausgelöste Zunahme des Sauerstoffverbrauchs überdauert, wie Abbildung 1a zeigt, die Steigerung der Motilität, Atemfrequenz und die biochemischen Veränderungen im Hirn und Herzmuskel, und zwar um 4–10 h. Die Tiere scheinen während der mehrstündigen Erregungsphase eine grössere Sauerstoffschuld einzugehen, die erst durch eine mehrstündige Sauerstoffnachatmung wieder ausgeglichen werden kann.

Die Zunahme der Atemfrequenz unter Pervitin von 130 auf 500–600/min mag sehr hoch erscheinen. Doch beträgt nach BÄNDER³³ die Atemfrequenz der frei beweglichen weissen Maus 240–400/min. Sie sinkt erst nach künstlicher Bewegungsbehinderung auf 180–120/min ab.

Ein unerwarteter Befund war die Abnahme der Rektaltemperatur während und nach der durch Pervitin ausgelösten Erregungsphase. Während der Pervitineregung scheint entweder die zentrale Wärmeregulation durch Pervitin gestört zu sein oder als Folge der Durchblutung- und Atmungssteigerung die Wärmeabgabe die Wärmebildung zu übertreffen.

Summary

The ATP- and coenzyme-A-content increases in the brain of white mice during excitation produced by Pervitin (2–3 $\mu\text{g}/\text{g}$ bodyweight) proportional to motility, rate of respiration and oxygen-uptake. These facts, observed in this almost physiological excitation, are contrary to the reduction of the energy-rich phosphates in the brain during convulsions.

³² A. SZENT-GYÖRGYI, *General Views on the Chemistry of Muscle-contraction* (S. Karger, Basel-New York 1955).

³³ A. BÄNDER, *Arch. exp. Path. Pharmak.* 206, 619 (1949).

³¹ K. ELLIOT, R. L. SWANK und N. HUNDERSON, *Amer. J. Physiol.* 162, 469 (1950).