

Aus dem Institut für physiologische Chemie der Universität Mainz

Ammoniak als Lebensmittelbestandteil und als Metabolit*)

Von H. LANGENDORF

(Eingegangen am 28. Dezember 1968)

I. Vorbemerkungen

Ammoniak, worunter im folgenden immer die Summe von $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ verstanden werden soll, ist im physiko-chemischen Sinne ein korrespondierendes Säure(NH_4^+)-Base(NH_3)-Paar, dessen pK' -Wert in NH_4^+ -Salzlösungen mit Ionenstärke von 0,04–0,30 bei 37 °C zwischen 8,95 und 9,06 liegt (N. BANK und W. B. SCHWARTZ). Im Blut fanden P. A. BROMBERG und Mitarb. einen pK' -Wert von $9,15 \pm 0,49$ bei 37°. Ammoniak liegt somit im physiologischen pH-Bereich ganz überwiegend als NH_4^+ -Ion vor.

Da NH_3 als neutrales Molekül ähnlich wie CO_2 die Zellmembranen leicht durchdringen kann, das NH_4^+ -Ion dagegen nicht oder zumindest wesentlich langsamer, kann ein Konzentrationsausgleich für NH_3 zwischen extracellulärem und intracellulärem Raum angenommen werden. Bei einer pH-Differenz zwischen den beiden Medien muß dann auf der Seite mit dem niederen pH die NH_4^+ - und damit auch die Gesamtkonzentration höher sein. Es gilt die Beziehung (M. H. JACOBS):

$$\frac{A_e}{A_i} = \frac{1 + 10^{\text{pK}'_e - \text{pH}_e}}{1 + 10^{\text{pK}'_i - \text{pH}_i}}$$

(A = Ammoniak-Gesamtkonzentration, e = extracellulär, i = intracellulär).

Setzt man $\text{pK}'_e = \text{pK}'_i$ und für beide den Wert 9,15, für pH_e 7,4 und für pH_i 6,94 (F. MANFREDI), dann erhält man für A_e/A_i den Wert 0,35. Die intracelluläre Ammoniak-Konzentration ist nahezu dreifach höher als die extracelluläre.

Da der Anteil von NH_3 an der Ammoniak-Gesamtkonzentration ansteigt, wenn sich die Differenz zwischen pK' und pH verringert, muß die intracelluläre Ammoniak-Konzentration zunehmen, wenn pH_e größer wird, also bei alkalotischer Stoffwechsellage (K. S. WARREN). Der Anstieg wird insbesondere dann ausgeprägt sein, wenn sich gleichzeitig die pH-Differenz zwischen extracellulärem und intracellulärem Raum vergrößert.

II. Die Ammoniak-Toxizität

Ammoniak ist eine giftige Substanz, dessen Wirkungen vor allem das Zentralnervensystem betreffen. Über psychische (Verwirrtheitszustände, Stupor, Bewußtlosigkeit) und motorische (Tremor, Krämpfe) Syndrome kommt es schließlich zum Exitus. In vitro führen Ammonium-Salze zu einer Verschiebung der Stoffwechsellage in Richtung einer gesteigerten Ketogenese. Durch

*) Ausarbeitung für die Kommission zur Prüfung fremder Stoffe bei Lebensmitteln (Fremdstoff-Kommission) der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

die reduktive Aminierung der α -Ketoglutarsäure wird der Zitronensäure-Zyklus an dieser Stelle unterbrochen und es kommt zu einem Mangel an Oxalacetat, so daß das anfallende Acetyl-Coenzym A nicht mehr in den Zyklus eingeschleust werden kann und zum Vorläufer der Acetessigsäure wird (R. O. RECKNAGEL und V. R. POTTER). S. P. BESSMAN und A. N. BESSMAN sind der Meinung, daß diese Störung des Zitronensäure-Zyklus im Gehirn die Ursache der Encephalopathie bei der Ammoniak-Intoxikation der Zirrhotiker ist. Diese Ansicht wird nicht von allen Autoren geteilt (s. dazu T. C. CHALMERS und G. A. MARTINI).

Charakteristisch für die experimentelle Ammoniak-Vergiftung ist die Abhängigkeit der Dosis letalis (LD) von der Art des verwendeten Ammonium-Salzes, insbesondere bei parenteraler Zufuhr. Die Dosis letalis liegt besonders niedrig, wenn das verwendete Salz gleichzeitig einen alkalisierenden Effekt hat. Nach P. M. GULLINO und Mitarb. beträgt die LD_{99,9} von Ammoniumacetat für Ratten bei intraperitonealer, subcutaner und peroraler Applikation 10,8; 37,0 und 72,6 mMol/kg, von Ammoniumchlorid 15,1; 60,0 und 76,1 mMol/kg. Bei Mäusen bestimmte K. S. WARREN die LD₅₀ des Chlorids bei intravenöser Zufuhr mit 135 μ Val., des Acetats mit 124,6 μ Val., des Bicarbonats mit 100,9 μ Val., des Carbonats mit 89,3 μ Val und des Hydroxyds mit 50,5 μ Val.

Die chronische Zufuhr von 12 mVal NH₄Cl/kg Körpergewicht bei Ratten hatte ohne Auftreten toxischer Symptome eine Verkürzung der Lebenszeit zur Folge, die als Ausfluß der Belastung des Säure-Basen- und Elektrolyt-Gleichgewichtes gedeutet wurde, da sie in gleicher Weise auch nach NaHCO₃ zu konstatieren war (H. LANGENDORF).

Für den gesunden Menschen sind Ammonium-Salze bei peroraler Zufuhr wenig toxisch. Man hat zu therapeutischen Zwecken 10 g NH₄Cl/Tag und mehr gegeben. Dabei kam es zu Unverträglichkeitserscheinungen (Erbrechen) und den Zeichen einer leichten Acidose, nicht jedoch einer Ammoniak-Vergiftung. M. P. TYOR und W. P. WILSON infundierte 37–94 mVal NH₄⁺ als Lactat oder Chlorid im Laufe einer Stunde und fanden eine Erhöhung der arteriellen Ammoniak-Konzentration von 0,04 auf 0,25–0,50 mVal/l, die aber 15 min nach Beendigung der Infusion meist schon wieder abgeklungen war. Toxische Symptome traten nicht auf.

III. Die Ammoniak-Bestimmung in biologischen Medien

Die Bestimmung der Ammoniak-Konzentration in biologischen Medien mit chemischen Methoden stößt auf erhebliche Schwierigkeiten. Einerseits muß das präformierte Ammoniak vollständig freigesetzt und in einer geeigneten Säure absorbiert werden, wo es meist colorimetrisch bestimmt wird, andererseits darf während der Freisetzungssprozedur kein weiteres Ammoniak durch enzymatische oder chemische Hydrolyse von Aminogruppen der Aminosäuren, Purine und Pyrimidine entstehen. Eine weitere Gefahr besteht in der Bestimmung anderer flüchtiger Amine. Es nimmt daher nicht wunder, wenn die Angaben über die Ammoniak-Konzentration z. B. im Blut oder Plasma außerordentlich stark variieren und von 3 bis über 100 μ g NH₃-N/100 ml reichen (in der älteren Literatur findet man noch weit höhere Werte). Viele Autoren sind daher dazu übergegangen, auf die Angabe eines „Normalwertes“ zu verzichten und teilen statt dessen den mit ihrer Methode bei Gesunden gefundenen oberen Grenzwert mit.

Neuerdings versucht man, das Ammoniak mit Hilfe der Glutamat-dehydrogenase auf enzymatischem Wege zu bestimmen. Die auf diese Weise in der Mainzer Universitätsklinik gefundenen Werte liegen in der Größenordnung von $5 \cdot 10^{-9} - 10^{-8}$ Mol/l (= 0,007–0,014 $\mu\text{g NH}_3\text{-N}/100 \text{ ml}$) (W. GEROK, pers. Mitteilung).

Die chemische Ammoniak-Bestimmung in Lebensmitteln hat natürlich mit den gleichen Schwierigkeiten zu kämpfen. Da Ammoniak zu den Substanzen gehört, die während des Verderbs eiweißhaltiger Lebensmittel entstehen, gehört die Ammoniak-Bestimmung in Nahrungsmitteln zu den lebensmittelhygienischen Kontrollmaßnahmen. In der Regel begnügt man sich jedoch mit halbquantitativen Methoden oder man bestimmt den gesamten flüchtigen Stickstoff oder den Reststickstoff. Aus neuerer Zeit sind jedenfalls kaum Angaben über den wahren Ammoniak-Gehalt von Lebensmitteln zu erhalten. Die im folgenden Abschnitt mitgeteilten Daten beruhen größtenteils auf alten, zum Teil auf sehr alten Analysen und sind mit hoher Wahrscheinlichkeit durchweg viel zu hoch.

IV. Der Ammoniak-Gehalt von Lebensmitteln

Ammoniak ist als eines der Ausgangs-, Intermediär- und Endprodukte des Stickstoff-Stoffwechsels ein physiologischer Bestandteil aller lebender Gewebe, allerdings in sehr geringer Konzentration. In den Pflanzen, für die NH_4^+ -Salze eine wichtige Stickstoff-Quelle sind, wird das rasch und leicht resorbierbare Ammoniak bereits in den Wurzeln zum größten Teil in organische Bindung überführt (D. N. PRJANISCHNIKOW und A. A. SCHMUCK, K. MOTHES). Nach A. WINTERSTEIN liegt der durchschnittliche Ammoniak-Gehalt pflanzlicher Gewebe bei 0,1–0,2 mg/100 g Frischgewicht. Einige Pflanzen haben einen besonders sauren Zellsaft und eine höhere Ammoniak-Konzentration und wurden daher von W. RUHLAND und K. WETZEL als „Säure“- oder „Ammonium“-Pflanzen bezeichnet. Zu ihnen gehören auch einige Gemüsepflanzen wie Beta vulgaris, Spinat, Gartenmelde und Guter Heinrich. In den Blattspreiten dieser Pflanzen wurde von M. KULTZSCHER ein $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt von 1,05 bis 2,65 mg/100 g gefunden. Sehr fraglich erscheint der $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt von Spargel (9,2 mg), Blumenkohl (40 mg) und Pilzen (10–132 mg $\text{NH}_3\text{-N}/100 \text{ g}$) (O. WINDHAUSEN). Für die Kartoffel werden 8–12 mg/100 g angegeben (L. H. LAMPITT und N. GOLDENBERG), für Traubensaft 15–22 mg/100 ml (A. BEYTHIEN). O. REICHARD teilt für verschiedene Weine einen Gehalt von 1,2 bis 4,5 mg/100 ml mit.

In frischen tierischen Nahrungsmitteln sind nur Spuren von Ammoniak zu finden. Wenn die enzymatisch bestimmte Ammoniak-Konzentration im menschlichen Blut real ist und wenn dieser Wert größenordnungsmäßig auch für andere Warmblüter gilt, kann man mit einem Ammoniak-Gehalt von 0,025 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ Muskel rechnen. Erst bei fortgeschrittenener Zersetzung tritt das Ammoniak in größeren Mengen auf. Während die Genussfähigkeit von Warmblüterfleisch bereits bei einem – mit konventionellen Methoden bestimmten – Ammoniak-Gehalt von 1 mg/100 g und weniger in Frage gestellt ist, verträgt Fischfleisch einen höheren Ammoniak-Gehalt. J. SCHORMÜLLER gibt als obere Grenze für Dorschfleisch 12 mg% und für frisches Heringsfleisch 20 mg% an. Nach J. GROSSFIELD liegt der Grenzwert für die Brauchbarkeit eines Eies zum

Weichkochen bei 3,7 mg% $\text{NH}_3\text{-N}$. Milch enthält nach D. D. COLE und Mitarb. 42–420 $\mu\text{g NH}_3\text{-N}/100 \text{ ml}$. Ohne Zweifel hat der Käse den höchsten Ammoniak-Gehalt aller Lebensmittel. Nach älteren Angaben (Zusammenstellung bei O. MEZGER und J. UMBRECHT) liegt er bei den verschiedenen Käsesorten in der Größenordnung von 100–450 mg%. J. SCHORMÜLLER und Mitarb. haben den Ammoniak-Gehalt von Harzer Käse im Verlaufe der Reifung kontrolliert und fanden Werte von 40–90 mg%. Der $\text{NH}_3\text{-N}$ macht etwa 20% des Rest-N aus.

Angesichts der analytischen Unsicherheit – man vergleiche die Ergebnisse der chemischen und enzymatischen Ammoniak-Bestimmung im Blute – kann man wohl schließen, daß die alimentäre Zufuhr präformierten Ammoniaks in den Milligramm-Bereich fällt und nur eine unbedeutende Teilfraktion der täglich resorbierten und im Stoffwechsel umgesetzten Ammoniak-Menge ist. Die Kenntnis des wahren Ammoniak-Gehaltes der Lebensmittel ist daher nur von begrenztem Wert.

V. Der Ammoniakstoffwechsel

In einer Reihe von enzymatischen Reaktionen kann freies Ammoniak entstehen oder in organische Bindung überführt werden. Das Zusammenwirken dieser Prozesse bedingt eine sehr niedrige Ammoniak-Konzentration in der Zelle. Da im Ruhezustand das peripherie venöse Blut die gleiche Ammoniak-Konzentration aufweist wie das arterielle, darf geschlossen werden, daß sich die Ammoniak-bildenden und Ammoniak-fixierenden Prozesse in der Muskulatur die Waage halten. In der Leber überwiegen die Ammoniak-fixierenden Reaktionen, in der Niere die Ammoniak-bildenden.

Die Bedenken gegen die Realität der mit chemischen Methoden gefundenen Ammoniak-Konzentrationen im Blut gelten nicht in gleichem Maße gegen die Realität der Existenz von Konzentrationsunterschieden zwischen dem Blut verschiedener Gefäßgebiete. W. V. McDERMOTT fand im peripheren venösen Blut eine Konzentration von 40–70 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, im Portalblut im Nüchternzustand von 200–300, nach eiweißreichen Mahlzeiten von 1000–1500 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ und im Nierenvenenblut von 100 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Für den Hund geben D. G. NATHANS und Mitarb. folgende Werte an: peripherer Kreislauf 100, Portal- und Nierenvenenblut 250 und Lebervenenblut 80 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Auch L. P. WHITE und Mitarb. fanden beim Lebergesunden eine niedrigere Ammoniak-Konzentration in der Lebervene als im peripheren Kreislauf, aber eine um 30% höhere Konzentration in der Nierenvene (Mittelwert im peripheren Blut 3 min nach der Entnahme 79 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$).

Als Ammoniak-Muttersubstanzen im Stoffwechsel kommen die Purine Adenin und Guanin und das Pyrimidin Cytosin sowie deren Nucleoside und Nucleotide in Frage. Die meisten L-Aminosäuren verlieren ihre Aminogruppe nicht durch eine Desaminierung, sondern durch Transaminierung auf eine α -Ketosäure, nur Glycin (Glycin-oxydase), Glutaminsäure (Glutamat-dehydrogenase), Glutamin (Glutaminasen) und Histidin (Histidase) werden direkt desaminiert bzw. desamidiniert. Auch bei der Reaktion der Aminosäurendehydrasen (Serin, Threonin und Homoserin) sowie der Desulfhydrasen (Cystein, Homocystein) entsteht freies Ammoniak, ebenso bei Transformylierungen, bei denen die Formimino-glutaminsäure beteiligt ist. Als Ammoniak-Lieferanten kommen ferner Amine (Aminoxydasen) und Hexosamine (Hexos-

amin-desaminasen) in Frage. Eine Übersicht über die Ammoniak-liefernden Prozesse und die beteiligten Enzyme findet man bei P. P. COHEN und G. W. BROWN sowie H. KAMIN und P. HANDLER.

In quantitativer Hinsicht sind die Desaminierung der Glutaminsäure und die Desamidinierung des Glutamins besonders hervorzuheben. Die Glutaminsäure ist für einen großen Teil aller Aminogruppen die letzte Station vor dem Einschleusen in den Harnstoff-Cyclus, das Glutamin ist die wichtigste Quelle für das Harn-Ammoniak. Zwar dient die renale Ammoniak-Produktion der Ausscheidung von Protonen in gebundener Form als NH_4^+ , aber offensichtlich entgeht ein Teil des gebildeten Ammoniaks der Ausscheidung und diffundiert in das Blut, so daß im Nierenvenenblut eine höhere Konzentration als im übrigen peripheren Blut gefunden wird (s. o.). Da es noch keine Untersuchungen über das Tagesprofil der NH_3 -Konzentration im Nierenvenenblut und über die Zusammenhänge zwischen der Höhe der Ammoniak-Ausscheidung und der Ammoniak-Konzentration im Nierenvenenblut gibt, läßt sich die quantitative Bedeutung der Niere als Ammoniak-Quelle schwer abschätzen. Immerhin deutet die hohe Durchblutung (etwa 1 l/min) darauf hin, daß auf diese Weise recht beträchtliche Ammoniak-Mengen in den Organismus gelangen, sicher weit mehr, als durch die Resorption von präformiertem Nahrungs-Ammoniak (E. E. OWEN und Mitarb.).

Ein weiteres Organ, das zeitweise als Ammoniak-Quelle in Frage kommt, ist der Muskel. Seit I. K. PARNAS ist bekannt, daß das venöse Blut aus dem tätigen Muskel 3-4 mal mehr Ammoniak enthält als das arterielle. Andererseits vermag die Muskulatur auch Ammoniak zu fixieren und diese Fähigkeit ist ohne Zweifel die quantitativ bedeutendere (S. P. BESSMAN und J. E. BRADLEY).

Perfundiertes Gehirngewebe setzt *in vitro* ebenfalls Ammoniak frei (H. WEIL-MALHERBE). *In vivo* dürfte dagegen die Ammoniak-Fixierung überwiegen (S. P. BESSMAN und A. N. BESSMAN), zumal Anzeichen dafür vorhanden sind, daß auch das Gehirn zur Harnstoff-Synthese befähigt ist (M. B. SPORN und Mitarb.).

Die bedeutendste Ammoniak-Produktion findet ohne Zweifel im Darmlumen statt, wo intestinale, vor allem aber bakterielle Enzyme aus den Ammoniak-Muttersubstanzen der Nahrung, aber auch aus dem körpereigenen Harnstoff Ammoniak freisetzen (O. FOLIN und W. DENIS, s. a. G. A. MARTINI, W. V. McDERMOTT, T. C. CHALMERS). Nach M. WALSER und L. J. BODENLOS werden wenigstens 25% des in der Leber gebildeten Harnstoffs im Darm wieder abgebaut. Die Rolle des Darms als Ammoniak-Produzent spiegelt sich wider in der deutlich höheren Ammoniak-Konzentration im Portalblut (s. o.) und die Bedeutung der Darmbakterien in der Tatsache, daß bei keimfrei aufgezogenen Meerschweinchen der Ammoniak-Gehalt des Portalblutes bei jeweil gleicher Fütterung wesentlich niedriger liegt als bei konventionell aufgezogenen Tieren (bei eiweißfreier Fütterung 83 gegenüber 173 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, mit 20% Eiweiß 196 gegenüber 868 und mit 40% Eiweiß 288 gegenüber 1244 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, K. S. WARREN und W. L. NEWTON).

Eine Überschlagsrechnung erlaubt eine grobe Abschätzung der Mengen an endogen und enterogen gebildetem Ammoniak. Bei der Harnstoff-Bildung, der Endstation des Stickstoff-Stoffwechsels beim Menschen (s. u.), wird eine Aminogruppe als freies Ammoniak eingeführt, die zweite von der Asparaginsäure direkt übertragen. Da die Harnstoffausscheidung bei durchschnittlicher

Ernährung zwischen 20 und 30 g/Tag liegt, sind 4,7–7,0 g NH₃-N als freies Ammoniak eingebaut worden. Im Darm werden 5,0–7,5 g Harnstoff zerstört und liefern 2,3–3,5 g NH₃-N. Für die Harnstoff-Synthese werden somit noch 2,4–3,5 g NH₃-N aus endogener Quelle benötigt, außerdem noch 4,7–7,0 g aus der Asparaginsäure. Die 2,3–3,5 g NH₃-N aus dem Harnstoff-Abbau im Darm werden über die Pfortader der Leber zugeführt. Die Leberdurchblutung liegt beim Menschen in der Größenordnung von 1,5 l/min (H. POPPER und F. SCHAFFNER, S. REICHMAN, W. SCHMITT). Davon entfallen auf den Portalkreislauf 44–80%, im Mittel 63% (H. UEDA), im Tage also 1360 l. In diesem Blute müßte die NH₃-N-Konzentration demnach um 170–260 μ g/100 ml höher liegen als im peripheren Blut, ein Wert, der in guter Übereinstimmung zu den bereits erwähnten Konzentrationsunterschieden zwischen peripherem und Portalblut im Nüchternzustand steht.

Nach eiweißreichen Mahlzeiten steigt die Ammoniak-Konzentration im Portalblut erheblich an (s. o., 1000–1500 μ g/100 ml), nicht aber im peripheren Blut (A. N. BESSMAN und Mitarb., s. a. T. C. CHALMERS, G. A. MARTINI, W. V. McDERMOTT). Es lassen sich jedoch keine begründeten Angaben über die Höhe der tatsächlichen Ammoniak-Resorption machen, da weder die Tagesprofile der Ammoniak-Konzentration im Portalblut noch der Beteiligung der Portaldurchblutung an der Leberdurchblutung bekannt sind. Aus Untersuchungen an Patienten mit Lebercirrhose, bei denen ein Teil des Portalblutes über Kollateralbahnen direkt in den großen Kreislauf gelangt, weiß man, daß die Ammoniak-Konzentration im peripheren Blut nach dem Genuß verschiedener Eiweiße in unterschiedlichem Maße ansteigt, nach Fischeiweiß mehr als nach Warmblütreiweiß und besonders stark nach Blut-Eiweiß (A. N. BESSMAN und Mitarb., G. A. MARTINI). Die Möglichkeit, die NH₃-N-Konzentration im Blut von Zirrhotikern durch peroral applizierte Antibiotica zu senken, weist ebenfalls auf die Rolle der Darmbakterien bei der enteralen Ammoniak-Freisetzung hin (s. K. KÜHN, G. A. MARTINI).

Die Zusammenstellung zeigt, daß die Menge des endogen und enterogen gebildeten Ammoniaks in der Größenordnung mehrere Gramme liegt und damit das alimentär eingeführte Ammoniak bei weitem übersteigt. Zur Fixierung des freien Ammoniaks stehen dem Organismus die Glutaminsäure-Bildung aus α -Ketoglutarat, die Glutamin-Synthese aus Glutaminsäure und schließlich die Harnstoff-Synthese zur Verfügung.

Bei der Glutaminsäure-Synthese wird α -Ketoglutarat durch das bereits genannte Ferment Glutamat-dehydrogenase reduktiv aminiert. An dieser Stelle des Stoffwechsels kann exogenes Ammoniak in den Eiweißstoffwechsel eingeschleust werden und in einem gewissen Umfang N-sparend wirken. Die Glutamat-dehydrogenase-Aktivität der menschlichen Leber ist *in vitro* sehr hoch, nach A. L. KENNAN und P. P. COHEN 169 μ Mol/g Feuchtgewicht/min und würde ausreichen, in der Stunde 40 g NH₃-N zu fixieren. Die gleichzeitig bestimmte Glutamin-synthetase-Aktivität würde die Fixierung von 627 mg NH₃-N/Std. erlauben.

Nach den Untersuchungen von G. D. DUDA und P. HANDLER an Ratten kommt der Glutamin-Synthese *in vivo* die größere Bedeutung bei der Ammoniak-Bindung zu. Die Autoren injizierten ¹⁵N-markiertes NH₄⁺-lactat und stellten bei niedrigen Dosen (50 μ Mol/Tier) vornehmlich einen Einbau von ¹⁵N in Glutamin fest. 15 min nach der Injektion war die spezifische Aktivität des

Glutamins etwa 7 mal größer als die der Glutaminsäure und des Harnstoffs. Eine geringe spezifische Aktivität wurde auch in Alanin und Asparaginsäure gefunden, nicht jedoch im Glycin. Nach 6 Stunden hatten Glutamin und Harnstoff nahezu die gleiche spezifische Aktivität, die Glutaminsäure war kaum noch markiert. Im Gesamtkörper waren 15 min nach der Injektion 65% der Dosis im Glutamin und im Harnstoff enthalten, nach 30 min 90%, wobei mehr als 80% als Amid-N im Glutamin vorlagen. Durch die Verabreichung steigender Dosen bis 7,5 mMol/kg wurden die Beziehungen zwischen Dosis und Syntheserate festgestellt. Es wurde eine typische hyperbolische Kurve erhalten, aus der sich ein V_{max} von 37,2 μ Mol/min/kg und ein K_m für Ammoniak von 1,5 mMol/kg errechnen ließen.

Die Harnstoff-Synthese ist ein cyklischer Prozeß, der damit beginnt, daß auf Ornithin das aus CO_2 und NH_3 gebildete Carbamylphosphat übertragen wird, wobei Citrullin entsteht. Bei diesem Schritt werden zwei ATP verbraucht, außerdem muß ein N-Acyl-glutamat, wahrscheinlich N-Acetyl-glutamat, anwesend sein. Unter erneutem ATP-Verbrauch wird Citrullin mit Asparaginsäure kondensiert und das gebildete Argininosuccinat in Arginin und Succinat gespalten. Das Succinat wird sofort zu Fumarat dehydriert. Arginin wird schließlich in Harnstoff und Ornithin zerlegt. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt in dieser Reaktionskette ist die Bildung von Argininosuccinat.

A. L. KENNAN und P. P. COHEN haben die Aktivitäten der beteiligten Enzyme in der Menschenleber bestimmt. Es handelte sich um Operationspräparate von zwei lebergesunden Erwachsenen. Die Aktivitäten in μ Mol umgesetztes Substrat/g Frischgewicht/Stunde betrugen im Mittel:

Carbamylphosphat-synthetase	240 \pm 17
Ornithin-transcarbamylase	8460 \pm 550
Argininosuccinat-synthetase	52 \pm 3,4
Arginin-synthetase	174 \pm 6
Arginase	7750

Die Aktivität der Argininosuccinat-synthetase würde bei einem Lebergewicht von 1500 g die Synthese von rund 114 g Harnstoff und somit die Fixierung von 26 g $\text{NH}_3\text{-N}$ als freies Ammoniak ermöglichen.

Bei den erwähnten Versuchen von DUDA und HANDLER wurde gefunden, daß die Harnstoff-Synthese in einem weiten Dosis-Bereich (50–1680 μ Mol NH_3/Tier) der Substratzufuhr linear korreliert ist (8,6% der Dosis in 20 min, bei noch höheren, bereits toxischen Dosen 6,0%) und demnach nicht von der Aktivität eines einzelnen Fermentes limitiert wird, sondern von der Anwesenheit des verfügbaren Substrates abhängt.

Die Kapazität der Ammoniak-fixierenden Enzymsysteme ist offensichtlich hoch genug, um das gesamte, im Darm und im Stoffwechsel anfallende Ammoniak sofort zu binden und somit eine ständige minimale Konzentration von freiem Ammoniak in der Zelle zu sichern. Da die Harnstoff-Synthese in der Leber stattfindet – die erwähnte Möglichkeit einer cerebralen Harnstoff-Bildung kann kaum eine quantitative Bedeutung haben – ist die Betrachtung des Ammoniak- und Harnstoff-Stoffwechsels bei Leberkrankheiten von besonderem Interesse.

VI. Der Ammoniak-Stoffwechsel bei Leberkrankheiten

Die klinische Erfahrung zeigt, daß die Ammoniak-Konzentration im Blut bei atrophischen und dystrophischen Leberkrankheiten erst in einem sehr späten Stadium ansteigt. Offensichtlich werden die Ammoniak-fixierenden Systeme, vor allem der Harnstoff-Zyklus, erst sehr spät geschädigt. Eine Sonderstellung nimmt dabei die Leberzirrhose ein, da hier zu der Zellschädigung eine Einengung der portalen Strombahn innerhalb der Leber tritt, die die Ausbildung von Kollateralbahnen und damit die Umgehung der Leber für das aus dem Intestinalgebiet kommende Blut zur Folge hat. Eine weitere Komplikation ist die stärkere und in höhere Darmabschnitte reichende Besiedelung des Darms mit Bakterien (G. A. MARTINI und Mitarb.). Dem doppelten Ausfall der Leber steht damit eine erhöhte Ammoniak-Bildung im Darm und eine gesteigerte Ammoniak-Resorption gegenüber.

Über weite Strecken der Zirrhose-Entwicklung bleibt die Ammoniak-Konzentration im peripheren Blut in normalen Grenzen. Selbst im Finalstadium, dem Coma hepaticum, wird nicht in allen Fällen eine Erhöhung des Blut-Ammoniaks gefunden.

Es ist hier nicht der Ort, auf die Pathogenese des Coma hepaticum einzugehen, über die es eine außerordentlich zahlreiche Literatur gibt (Übersichten s. bei S. P. BESSMAN, T. C. CHALMERS, H. KÜHN, G. A. MARTINI, W. V. McDERMOTT, D. MÜTING, H. POPPER und F. SCHAFFNER, S. SHERLOCK, J. STAHL). Die meisten Autoren stimmen darin überein, daß das Ammoniak eine wichtige Rolle bei der Coma-Entstehung spielt, daß es aber sicher nicht die einzige toxische Substanz ist.

Zu den gefürchteten Komplikationen bei einer Leberzirrhose gehören die Blutungen aus den Kollateralbahnen in das Magen-Darm-Lumen, und zwar, weil solche Blutungen noch viel häufiger als Ulcus-Blutungen nicht spontan zum Stillstand kommen, aber auch, weil das Blut im Darm die Ammoniak-Produktion erheblich steigert. Die Folge ist ein starker Anstieg des Blut-Ammoniaks und häufig die Auslösung eines komatösen Zustandes. Um der Wiederholung solcher Blutungen vorzubeugen, empfehlen viele Kliniker die Anlegung einer porto-cavalen Anastomose, also die völlige Ausschaltung der Leber aus dem Portalkreislauf (s. dazu H. W. SCHREIBER und Mitarb.). Nach solchen Operationen bleibt ein erhöhter Ammoniak-Gehalt im peripheren arteriellen Blut bestehen und es kann zur sog. hepato-portal Encephalopathie, einem comatösen Zustand, kommen (A. GÜTGEMANN und Mitarb.). Es zeigt sich aber auch, daß nach Ausschaltung der Leber die Peripherie, vor allem die Muskulatur, in verstärktem Maße zur Ammoniak-Entgiftung beiträgt, denn man findet eine deutliche arterio-venöse Ammoniak-Differenz im peripheren Blut.

Zur Differentialdiagnose der gastrointestinale Blutung verwendet man häufig den Ammoniak-Toleranz-Test, der früher als eine Leberfunktionsprobe galt, seit E. KIRK aber als Test auf das Vorhandensein von portocavalen Kollateralbahnen angesehen werden muß. Man gibt dabei 5 g (früher auch mehr) eines Ammonium-Salzes, etwa das Acetat oder Citrat, immerhin etwa 1 g NH₃-N, peroral. Ein starker Anstieg der Ammoniak-Konzentration im peripheren arteriellen Blut weist auf die Existenz von Kollateralbahnen hin. Bei derartigen Tests ist gelegentlich eine Coma-Periode ausgelöst worden (J.

EGENSE, 5–10 g NH₄⁺-citrat, J. STAHL, 5 g NH₄⁺-acetat, L. P. WHITE und Mitarb., 3 g NH₄Cl).

Der Toleranz-Test fällt gewöhnlich negativ aus, wenn keine Kollateralsbahnen bei bestehenden Leberkrankheiten wie Hepatitiden, Fettleber oder Verschlußikterus vorhanden sind (J. STAHL). Gerade die Harnstoff-Bildung erweist sich als besonders widerstandsfähig gegenüber toxischen Störungen verschiedener Art (Tetrachlorkohlenstoff usw.). W. LÖFFLER perfundierte die Lebern vergifteter Hunde (Phosphor, Alkohol, Chloroform, Nicotin, KCN) und fand erst bei schwerster Leberzerstörung eine Einstellung der Harnstoff-Synthese. Bei Ratten und Kaninchen hat die Entfernung von 80–90% der Leber keinen Einfluß auf die Harnstoff-Synthese (F. C. MANN und J. L. BOLLMAN, P. D. McMASTERS und D. R. DRURY). Dies entspricht der klinischen Erfahrung, daß es erst im Finalzustand der Zirrhose – wenn überhaupt – zu einer Verminderung der Harnstoffbildung und Absinken der Harnstoff-Konzentration im Serum kommt.

Die Unübersichtlichkeit der Beziehungen zwischen der Ammoniak-Konzentration im Blut und der Schwere des Zustandsbildes bei der Lebercirrhose, besonders im Coma, röhrt sicher davon her, daß eine Reihe weiterer Faktoren in dieses Geschehen eingreift. Hier sind zu nennen Alkalisierung der Stoffwechselleage, Steigerung der renalen Ammoniak-Synthese im Kalium-Mangel, Wasserverlust durch Diurese oder Ascitespunktion, Blutdruckabfall und Anämie nach gastrointestinalem Blutungen und endlich die Wirkung einer Reihe von Medikamenten wie Diuretica, Corticosteroiden und Hemmsubstanzen der Steroidhormone usw. (s. bei T. C. CHALMERS und G. A. MARTINI). Ohne Zweifel ist der Zirrhotiker, besonders im fortgeschrittenen Stadium, ständig der Gefahr einer Ammoniak-Intoxikation ausgesetzt. Die dazu notwendigen Mengen dürften aber, wenn man von einer Verabreichung von Ammonium-Salzen absieht, nur durch die bakterielle Eiweiß- und Harnstoff-Zersetzung im Darm geliefert werden können.

VII. Schlußbetrachtung

Aus den eingangs erwähnten Daten über die Ammoniak-Verteilung zwischen extra- und intrazellulärem Raum sowie der enzymatisch bestimmten Ammoniak-Konzentration im Blut ($\sim 0,01 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$) ergibt sich ein Ammoniak-Bestand von rund 9 μg , davon 7 μg im intracellulären Raum, bei einem 70 kg schweren Menschen. Die Ammoniak-Resorption allein aus dem Harnstoffzerfall im Darm liegt bei 3 g, der Umsatz bei der Harnstoff-Synthese bei 5 g und die Ausscheidung mit dem Harn aus der renalen Produktion bei 0,5 g. Unter normalen Bedingungen ist die Kapazität der Leber zur Harnstoff-Synthese nur zu etwa 20% ausgenutzt. Die hohe Kapazität der Ammoniak-fixierenden Enzyme Glutamat-dehydrogenase, Glutamin-synthetase und Carbamylphosphat-synthetase geht einher mit einer außerordentlichen Widerstandsfähigkeit dieser Stoffwechselsysteme gegen Schädigungen aller Art. Daher kommt es selbst bei schweren Lebererkrankungen erst in späten Stadien zu einem gefährlichen und lebensbedrohenden Anstieg der Ammoniak-Konzentration im Blut. Gegenüber der endogenen und vor allem der enterogenen Ammoniak-Produktion spielt das präformierte Ammoniak in der Nahrung nur eine untergeordnete Rolle.

Zusammenfassung

Nach einer kurzen Darstellung der physiko-chemischen Parameter des Ammoniak/Ammonium-Systems in biologischen Medien und der Schwierigkeiten der Ammoniak-Bestimmung werden einige Angaben über den Ammoniak-Gehalt von Lebensmitteln gemacht. Aus ihnen geht hervor, daß die alimentäre Ammoniak-Zufuhr im Milligramm-Bereich, die Ammoniak-Produktion im Organismus, insbesondere durch den Beitrag der Darmbakterien, jedoch im Gramm-Bereich liegt. Normalerweise übersteigt die Kapazität der Ammoniak-fixierenden Stoffwechselssysteme, die sich weiterhin durch eine bemerkenswerte Resistenz gegenüber Schädigungen auszeichnen, die Produktion um ein Vielfaches. Bei der Leberzirrhose, bei der das Portalblut via Kollateralbahnen an der Leber vorbei geleitet wird, kann es zu einer enterogenen Ammoniak-Intoxikation kommen.

Summary

The physico-chemical data of the ammonia-ammonium-system are briefly discussed and some remarks made about the difficulties of the estimation of ammonia in biological media. The content of ammonia in foods, compared with the ammonia-production in organism, shows the alimentary supply of ammonia lying in the range of milligrams, but the production lying in the range of grams. The capacity of the ammonia-fixating metabolic systems, characterized by a remarkable resistance against damages, is in excess of the production in normal conditions. In liver cirrhosis, there is occasion for an enterogenic ammonia-intoxication, because the blood of the portal vein surrounds the liver by collateral vessels.

Literatur

1. BANK, N. and W. B. SCHWARTZ, *J. appl. Physiol.* **15**, 125 (1960). — 2. BESSMAN, S. P., *Ann. Int. Med.* **44**, 1037 (1956). — 3. BESSMAN, S. P. and A. N. BESSMAN, *J. clin. Invest.* **34**, 622 (1955). — 4. BESSMAN, S. P. and J. E. BRADLEY, *New Engl. J. Med.* **253**, 1143 (1955). — 5. BESSMAN A. N., G. S. MIRICK, and R. HAWKINS, *J. clin. Invest.* **37**, 990 (1958). — 6. BEYTHIEN, A., *Obst und Obsterzeugnisse*. In: *Handb. Lebensmittelchem.*, Band V, S. 501 (Berlin 1938). — 7. BROMBERG, P. A., E. D. ROBIN, and C. E. FORKNER JR., *J. clin. Invest.* **39**, 332 (1960). — 8. CHALMERS, T. C., *New Engl. J. Med.* **263**, 23, 77 (1960). — 9. COHEN, P. P. and G. W. BROWN JR., *Ammonia metabolism and urea biosynthesis*. In: *Comp. Biochem.* Vol. II, S. 161 (New York, 1960). — 10. COLE, D. D., W. J. HARPER, and C. L. HANKINSON, *J. Dairy Sci.* **44**, 171 (1961). — 11. DUDA, G. A. and P. HANDLER, *J. biol. Chem.* **232**, 303 (1958). — 12. EGENSE, J., *Acta Med. Scand.* **173**, 7 (1963). — 13. FOLIN, O. and W. DENIS, *J. biol. Chem.* **11**, 161 (1912). — 14. GROSSFELD, J., *Eier*. In: *Handb. Lebensmittelchem.*, Band III, S. 580 (Berlin 1936). — 15. GÜTGEDECK, A., H. W. SCHREIBER, K. H. SCHRIEFERS und H. PENIN, *Dtsch. med. Wschr.* **86**, 2370 (1961). — 16. GULLINO, P. M., V. B. MITBANDER, and T. B. MOORE, *J. Lab. clin. Med.* **57**, 671 (1961). — 17. JACOBS, M. H., *J. gen. Physiol.* **2**, 181 (1922). — 18. KAMIN, H. and P. HANDLER, *Ann. Rev. Biochem.* **26**, 419 (1957). — 19. KENNAN, A. L. and P. P. COHEN, *Proc. Soc. exp. Biol.* **106**, 170 (1961). — 20. KIRK, E., *Amino acid and ammonia metabolism in liver disease* (Kopenhagen 1936). — 21. KÜHN, H., *Dtsch. med. Wschr.* **83**, 658 (1958). — 22. KULTZSCHER, M., *Planta* **17**, 699 (1932). — 23. LAMPITT, L. H. and N. GOLDENBERG, *Chem. and Ind.* **59**, 748 (1940). — 24. LANGENDORF, H., *Säure-Basen-Gleichgewicht und chronische acidogene und alkalogene Ernährung*. *Z. Ernährungswiss.* Suppl. **2**, (1963). — 25. LÖFFLER, W., *Biochem. Z.* **112**, 164 (1920). — 26. MANFREDI, F., *J. Lab. clin. Med.* **61**, 1005 (1963). — 27. MANN, F. C. and J. L. BOLLMAN, *Arch. Path.* **1**, 681 (1926). — MARTINI, G. A., *Dtsch. med. Wschr.* **86**, 1351 (1961). — 29. MARTINI, G. A., E. A. PEAR, B. RUEBNER, and S. SHERLOCK, *Clin. Sci.* **16**, 35 (1957). — 30. McDERMOTT, W. V. JR., *New Engl. J. Med.* **237**, 1076 (1957). —

31. McMASTER, P. D. and D. R. DRURY, J. exp. Med. **49**, 745 (1929). — 32. MEZGER, O. und J. UMBRECHT, Käse. In: Handb. Lebensmittelchem., Band III, S. 308 (Berlin 1936). — 33. MOTHERS, K., Handb. Pflanzenphysiol. Band VIII, S. 716 (Berlin 1958). — 34. MÜTING, D., Med. Welt **1962**, 1081. — 35. NATHANS, D., J. F. FAHEY, and A. G. SHIP, J. Lab. clin. Med. **51**, 124 (1958). — 36. OWEN, E. E., M. P. TYOR, J. F. FLANAGAN, and J. N. BERRY, J. clin. Invest. **39**, 288 (1960). — 37. PARNAS, I. K. und W. MOZOLOWSKI, Biochem. Z. **184**, 399 (1927). — 38. PARNAS, I. K., W. MOZOLOWSKI und W. LEWINSKI, Biochem. Z. **188**, 15 (1927). — 39. POPPER, H. und F. SCHAFFNER, Die Leber (Stuttgart 1961). — 40. PRJANISCHNIKOW, D. N. und A. A. SCHMUCK, Handb. Pflanzenanalyse. Band II/1, S. 97 (Wien 1932). — 41. RECKNAGEL, R. O. und V. R. POTTER, J. biol. Chem. **191**, 263 (1951). — 42. REICHARD, O., Wein. In: Handb. Lebensmittelchem. Band VII, S. 286 (Berlin 1938). — 43. REICHMAN, S., W. D. DAVIS, J. P. STORAASLI, and R. GORLIN, J. clin. Invest. **37**, 1847 (1958). — 44. RUHLAND, W. und K. WETZEL, Planta **1**, 558 (1926). — 45. SCHMITT, W., Fortschr. Med. **82**, 353 (1964). — 46. SCHORMÜLLER, J., Lebensmittelchemie (Berlin-Heidelberg-New York 1961). — 47. SCHORMÜLLER, J., H. LIESE und H. WINTER, Z. Lebensmitteluntersuch. und -forschung **98**, 258 (1954). — 48. SCHREIBER, H. W., K. H. SCHRIEFERS, G. ESSER und W. M. BARTSCH, Dtsch. med. Wschr. **89**, 2185 (1964). — 49. SHERLOCK, S., Gastroenterology **41**, 1 (1961). — 50. SPORN, M. B., W. DINGMAN, A. DEFALCO und R. K. DAVIES, J. Neurochem. **4**, 141 (1959) und **5**, 62 (1959). — 51. STAHL, J., Ann. Int. Med. **58**, 1 (1963). — 52. TYOR, M. P. und W. P. WILSON, J. Lab. clin. Med. **51**, 592 (1958). — 53. UEDA, H., Circulation of hepatic artery and portal vein. In: Akt. Probleme Hepatologie, S. 58 (Stuttgart 1962). — 54. WALTERS, M. und L. J. BODENLOS, J. clin. Invest. **38**, 1617 (1959). — 55. WARREN, K. S., J. clin. Invest. **37**, 497 (1958). — 56. WARREN, K. S., Nature **195**, 47 (1962). — 57. WARREN, K. S. und W. L. NEWTON, Amer. J. Physiol. **197**, 717 (1959). — 58. WEIL-MALHERBE, H. und R. H. GREEN, Biochem. J. **61**, 210 (1955). — 59. WHITE, L. P., E. A. PHEAR, W. H. SUMMERSKILL, S. SHERLOCK, und M. COLE, J. clin. Invest. **34**, 158 (1955). — 60. WINDHAUSEN, O., Gemüse und Gemüsedauerwaren. In: Handb. Lebensmittelchem. Band V, S. 734 (Berlin 1938). — 61. WINDHAUSEN, O., Pilze und Schwämme. In: Handb. Lebensmittelchem. Band V, S. 812 (Berlin 1938). — 62. WINTERSTEIN, A., Handb. Pflanzenanalyse, Band III/1, S. 228 (Wien 1932).

Anschrift des Verfassers:

Dr. H. LANGENDORF, Zentrallabor Chirurg. Kliniken Universität Mainz
6500 Mainz, Langenbeckstr. 1