

Aus der Psychiatrisch-neurologischen Universitätsklinik, Wien
(Vorstand: Prof. Dr. H. Hoff)

Untersuchungen zum Schizophrenieproblem

III. Mitteilung: Das Verhalten der C^{14} -radioaktiven
Bernsteinsäure im Stoffwechsel der Gehirnnervenzellen

Von

O. H. Arnold, G. Hofmann und H. Leupold-Löwenthal

Mit 4 Textabbildungen

- I. Einleitung.
- II. Spezielle Fragestellung.
- III. Synthese der C^{14} -radioaktiven Bernsteinsäure.
- IV. Methodik.
- V. Ergebnisse.
- VI. Diskussion.
- VII. Zusammenfassung.
- Literatur.

I. Einleitung

Die im folgenden berichteten Untersuchungen wurden im Rahmen unserer Arbeitshypothese zur Schizophrenieforschung unternommen, wie sie bereits in den Arbeiten von ARNOLD^{3, 4} und ARNOLD und H. MANN⁵ dargestellt wurde.

Diese Hypothese wird gebildet durch eine gedankliche Leitlinie, allen an der Schizophrenieforschung Mitarbeitenden Bezugs- und Ordnungs Gesichtspunkte geben soll, ob sie nun von der Erbbiologie, Biochemie, Pharmakopsychiatrie, Hirnpathologie oder Neurophysiologie herkommen; schließlich soll sie die Beziehungsaufnahme zur Psychopathologie und zum großen Bereich der Persönlichkeitsforschung ermöglichen.

Sie kann dargestellt werden als eine Brücke vom Faktum der genetischen Teilkausalität schizophrener Manifestationen über Fermentgift und Fermentstörung der Energiebilanz von Ganglienzellen, der Aktualisierung und Auswirkung auf den Leistungsstoffwechsel einzelner Zellen und deren Beziehung zum Versagen eines Systems, das die Inta

heit der Erlebnisgrundfunktion garantiert. Mit der Einführung einer resultierenden spezifischen Störung dieser Grundfunktion, des Erlebnisvollzugs wird der Zentralpfeiler der Brücke nach der Seite der Symptomgesetze, resultierenden Verläufe und Einzelsymptome hin überschritten und mit der Einbeziehung der affizierten und zur Stellungnahme gezwungenen Einzelpersönlichkeit das letzte Brückenglied hin zur schizophrenen Persönlichkeit geschlagen.

Aus diesem Gesamtbau soll hier das Teiglied Zelleistung — Leistungsstoffwechsel — Energiestoffwechsel — herausgehoben sein. Wir fanden vorerst an LSD.-25-Vergifteten kupierende und auch prophylaktisch inhibierende Effekte von Glutamin- und später Bernsteinsäure (BSTS.), wie bereits veröffentlicht. Entsprechend der Arbeitshypothese gelang bisweilen die Übertragung dieser Effekte auf aktuelle schizophrene Manifestationen bestimmter Prägung. Die Annahme war, daß die zugeführte Bernsteinsäure, allerdings nur mit einem geringen Prozentsatz, tatsächlich in den Kohlehydratstoffwechsel der Ganglienzelle eingebaut würde und die passagere Behinderung der Glykolyse durch Eintritt in den Zitronensäurezyklus überbrücken könne.

II. Spezielle Fragestellung

So ist zu fragen, auf welchem Wege und auf Grund welcher Stoffwechselvorgänge und -mechanismen die Blockierung der LSD.-25-Wirkung erfolgen konnte.

Zunächst war einmal grundsätzlich zu überlegen und zu untersuchen, ob BSTS. die Bluthirnschranke passieren könne oder nicht. Damit ist zugleich die Fragestellung angeschnitten, ob die zugeführte BSTS. direkt am Stoffwechsel des Gehirns anzugreifen vermag oder indirekt ihre Wirkung durch Veränderung etwa der Stoffwechselvorgänge der Leber ausübt. Es wäre auch vorstellbar, daß die zugeführte BSTS. zur erhöhten Bildung eines anderen Stoffwechselzwischenprodukts Anlaß gibt und erst dieses Stoffwechselzwischenprodukt in das Gehirn einzutreten vermag.

Entsprechend der hohen selektiven Wirkung der Bluthirnschrankenfunktion ist dieses Problem auch bei niedermolekularen Substanzen und Stoffen von allgemein hoher Stoffwechselaktivität nicht von vornherein nach einer bestimmten Richtung hin zu beantworten. Es waren die zahlreichen Untersuchungen zu berücksichtigen, die z. B. für das Glutamat einen Übertritt von Blut in das Hirngewebe mit ziemlicher Sicherheit ausschlossen^{22, 35, 42}.

Auch mußte daran gedacht werden, daß einem Übertritt von BSTS. in das Gehirn eventuell pathologische Veränderungen der Bluthirnschrankenfunktion zugrunde liegen könnten.

Die von uns angewandte Technik der Autoradiographie, zusammen mit der Verwendung von C¹⁴-BSTS. im Rahmen dieses Problemkreises

erlaubte auch Untersuchungen über die Frage, in welchen Gehirnabschnitten BSTS. oder andere aus BSTS. hervorgehende Stoffwechselzwischen- und -endprodukte nachweisbar waren, bzw. ob es gelänge, Beziehungen in der quantitativ verschiedenen Verteilung der BSTS. in den einzelnen Hirnabschnitten zu anderen Stoffwechselgrößen zu finden.

Dabei war es natürlich von hohem Interesse, nachzuweisen, in welchen Zellarten des Gehirns die C^{14} -BSTS. in den Stoffwechsel eingriff.

Nicht zuletzt war der Beweis zu erbringen, ob der von uns angenommene Einbau der BSTS. in den Kohlehydratstoffwechsel der Gehirnzelle auch durch die im Tierversuch gefundenen Verhältnisse bestätigt werden konnte. Dazu wurden vornehmlich chromatographische Methoden in Gehirn und Leberextrakten zum Nachweis der Dicarbonsäuren, sowie deren Auswertung durch superponierte Filme (Radiochromatogramm) herangezogen.

III. Synthese der C^{14} -radioaktiven Bernsteinsäure

Die zu den Versuchen verwendete 2,3- ^{14}C -Bernsteinsäure wurde mittels einer von 2- ^{14}C -Natriumacetat ausgehenden und über die 2- ^{14}C -Monobromessigsäure verlaufenden Synthese gewonnen. Die Methode, die sich im Gegensatz zu bereits bekannten Verfahren in viel einfacheren Apparaturen durchführen läßt, wurde in Anlehnung an den von JORGENSEN²³ angegebenen Weg von G. BILLEK⁷ am I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien gefunden.

IV. Methodik

1. Tierversuche

Zu den Versuchen wurden als Versuchstiere Mäuse und Meerschweinchen im Gewicht von 15 bzw. 300 g verwendet. Die markierte Bernsteinsäure wurde den Tieren meist intraperitoneal appliziert. Die Tötung der Versuchstiere erfolgte durch Eröffnung des Thorax und Punktion des Herzens. Diese Tötungsart wurde gewählt, um eine eventuelle Beeinflussung der Schrankenfunktion durch vorherige Narkose oder andere Eingriffe zu vermeiden. Es wurde dann eine Spülung der Hirngefäße von den Arteriae carotides internae aus durchgeführt. Als Spülflüssigkeit fand Kompensan Verwendung. Bei der Maus wurden etwa 20 ccm Kompensan für jede Seite, beim Meerschweinchen 40 ccm verwendet und es wurde so eine Blutfreiheit der Gefäße gewährleistet. Dies erschien notwendig, um eine Störung der autoradiographischen Bilder durch die starke Radioaktivität des in größeren Mengen C^{14} -BSTS. enthaltenden Blutes zu vermeiden. Nach der Spülung wurde das Gehirn vorsichtig freipräpariert und in der gewünschten Weise verarbeitet.

2. Autoradiographie

Zur autoradiographischen Untersuchung wurden aus dem Gehirn der verwendeten Mäuse ein Frontalschnitt, der auch die Stammganglien traf, ein Schnitt durch das Cerebellum sowie ein Schnitt aus Leber und Niere entnommen. Die Schnitte waren etwa 1 mm dick, wurden in Propan, das in flüssiger Luft gekühlt war, rasch eingefroren. Die weitere Aufarbeitung erfolgte mit der Gefriertrockenmethode. Die Schnitte wurden im Vakuum in Paraffin eingebettet und dann in der üblichen Weise weiter verarbeitet.

Um eine Histochemoradiographie zu vermeiden, wurden die auf Objektträger montierten histologischen Schnitte mit 1% alkoholisch-ätherischer Zelloidinlösung behandelt. Als strahlungsempfindliche Schicht verwendeten wir „Kodak Autoradiographic Plates“ in einer stripping film-Technik⁸.

Die Expositionszeit betrug für die Hirnschnitte etwa 2 Monate. Zur Entwicklung wurde ein harter, rasch arbeitender Entwickler, zuletzt der Spezialentwickler Kodak D 19 verwandt. Die Fixierflüssigkeit bestand aus einer 30%-Lösung von Natriumthiosulfat ohne Säurezusatz. Nach Wässerung wurden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und mit Dammaharz eingedeckt, eine Gegenfärbung erfolgte nicht.

3. Chromatographie

Die Organe für diese Untersuchungen wurden so rasch als möglich aus den — in diesem Fall durch Nackenschlag — getöteten Tieren herauspräpariert, sofort in Kohlensäureschnee eingefroren, homogenisiert, mit Schwefelsäure angesäuert und in Äther extrahiert. Der Äther wurde im Vacuum abgedampft, der Trockenrückstand in Äthylalkohol aufgenommen.

Die Chromatographie erfolgte nach der Methode von Kalbe²⁴, wobei als Lösungsmittel Phenol-Xylol-Ameisensäure im Verhältnis 5:5:2 (v/v/g) zur Anwendung kam. Das Papier war ein Schleicher und Schüll 2043 b, das Verfahren aufsteigend. Als Indikator wurde, wie von KALBE angegeben, Methylrot verwendet.

Vergleichschromatogramme wurden mit folgenden Substanzen durchgeführt: Bernsteinsäure, Apfelsäure, Zitronensäure, Oxalsäure und Milchsäure. Die R_f -Werte lagen gegenüber den von KALBE angegebenen alle durchschnittlich etwas höher, was wohl auf den niedrigeren Reinheitsgrad der von uns verwandten Solventien zurückzuführen sein dürfte. Zum Nachweis der Radioaktivität der C^{14} -Bernsteinsäure im Chromatogramm superponierten wir in einer Röntgenkassette einen Röntgenfilm und exponierten je 1 Woche und 4 Wochen.

4. Untersuchungen am Menschen

Es wurde einer 61 kg schweren weiblichen Schizophrenen, die zur Lobotomie bestimmt war — leicht faseliger affektgestörter, 11 Jahre bestehender Defektzustand der Gruppe D 3 (ARNOLD)⁴ mit passageren Exazerbationen als Drangenthemmungen — 286,3 mg C¹⁴-Bernsteinsäure (4,7 mg/kg) = 4,27 microC, innerhalb 30 Minuten i. v. in kontinuierlicher Form zugeführt. Die Aktivität wurde mittels der CO₂-Gaszählmethode in Harn, Liquor und Serum bestimmt.

V. Ergebnisse

1. Bestimmung des Gehalts von BSTS. in verschiedenen Organproben der Maus:

Die nach dem vorstehend beschriebenen Verfahren verarbeiteten Gewebstücke aus Hirnteilen, Leber, Muskel und Niere wurden als Trockenpulver versandt* und der Gehalt an radioaktiver Substanz durch Messung des C¹⁴ mittels der CO₂-Methode im Gaszählrohr bestimmt.

Es ergab sich dabei, daß die Bernsteinsäure oder eine aus ihr hervorgegangene Substanz die Bluthirnschranke in nachweisbaren Mengen durchtreten hatte. Die folgende Tabelle zeigt einen typischen derartigen Versuch:

Tabelle 1. *Versuchstier: Maus im Gewicht von 19 g 101,2 mg BSTS. mit 1,54 microC intraperitoneal, Tötung 10 Minuten nach Injektion*

Organ	Frischgewicht mg	Absolutgehalt mg BSTS.	% der Inj. BSTS.
Leber	1,274,6	1,390	1,30
Muskel	125,7	0,120	(0,1)
Niere	274,6	1,150	1,1
Kleinhirn	68,0	0,060	0,06
Hirnstamm	167,3	0,035	0,034
Großhirn	179,1	0,026	0,025
Gesamthirn	414,4	0,121	0,12

Bezüglich der deutlich höheren Kleinhirnwerte wäre in Rechnung zu stellen, wie weit bei der Carotisspülmethode im Vertebralisbereich des Kleinhirns völlige Blutfreiheit erreicht werden kann.

2. Permeabilitätsverhältnisse: Um zu untersuchen, ob nicht eine Störung der Schrankenfunktion durch die in die Blutbahn gebrachte BSTS.-Menge erfolgt sei, wurde ein Versuch durchgeführt, bei dem neben der BSTS. den Versuchstieren auch Di-Jod-Fluoreszin¹¹ verabreicht wurde. Nach den entsprechenden Zeitabständen wurden auch hier die Versuchs-

* Der Firma Sandoz, Basel, sind wir für diese Messungen zu großem Dank verpflichtet.

tiere getötet, das Gehirn gewonnen und sorgfältig nach einer Vitalfärbung des Gehirns gesucht. Doch konnte eine solche — sie wäre ein Indikator für eine Permeabilitätsstörung — nicht nachgewiesen werden. Damit scheint mit einiger Wahrscheinlichkeit schlüssig gemacht, daß die C^{14} -Substanz die Bluthirnschranke durchtritt und ins Hirngewebe gelangt, ohne daß eine faßbare Permeabilitätsstörung vorliegt.

3. Autoradiographische Untersuchungen: Die Abb. 1 zeigt eine Übersicht über die Verteilung der Aktivität der C^{14} -Substanz im Gehirn, wie sie sich aus den durchgeführten autoradiographischen Untersuchungen ergab.



Abb. 1.¹ Autoradiogramm (C^{14} -Bernsteinsäure). Gehirn der Maus (Frontalschnitt, ohne Gegenfärbung). a. Graue Substanz der parieto-okzipitalen Region, b. Weiße Substanz, c. Lobus limbicus, Formation des Hippocampus. d. Artefakte (Gefriertrockenpräparat)

Die stärkste Aktivität war in der Körnerzellschicht des Kleinhirns festzustellen, dann folgten in absteigender Reihenfolge der Lobus limbicus, insbesondere Uncus und Gyrus hippocampi, dann das Gebiet der Stammganglien, der Cortex der parieto-okzipitalen Region und zuletzt das Hemisphärenmark, Balken, d. h. die weiße Substanz überhaupt.

Bei Betrachtung der histologischen Schnitte in einer größeren Vergrößerung, wie es Abb. 2 zeigt, kann demonstriert werden, daß die C^{14} -Aktivität im Cortex cerebri zum weitaus größeren Teil in den Ganglienzellen lokalisiert ist.

Durch eine Vergrößerung der Diapositivplatten konnte auch die intrazelluläre Verteilung zur Darstellung gebracht werden. Dies ist zwar bei direkter mikroskopischer Betrachtung ebenfalls möglich, eine photographische Reproduktion scheiterte jedoch an der geringen Lichtstärke mit unseren Geräten. Es ist deutlich zu sehen, daß die Aktivi-

tät ausschließlich im Cytoplasma der Ganglienzellen, mit einer gewissen Verdichtung im perinuklearen Bereich gelegen ist und das Kerngebiet völlig ausgespart bleibt.

4. Bestimmung des BSTS.-Gehalts in Serum und Liquor des Menschen: Im 24-Stunden-Harn fand sich dabei — auf Bernsteinsäurebasis umge-

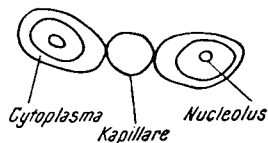


Abb. 2. Autoradiogramm C^{14} -Bernsteinsäure (Ganglienzellen aus dem Cortex des Frontalhirnes der Maus)

rechnet — eine Menge von 0,46 mg wieder, im Serum nach 10 Minuten 5,1, nach 170 Minuten 0,24 mg%, im Liquor in den gleichen Zeiträumen 0,42 und 1,0(!) mg%. Ein Nachweis einer den Background verwertbar überschreitenden Aktivität in der Aufarbeitung eines bei der Lobotomie

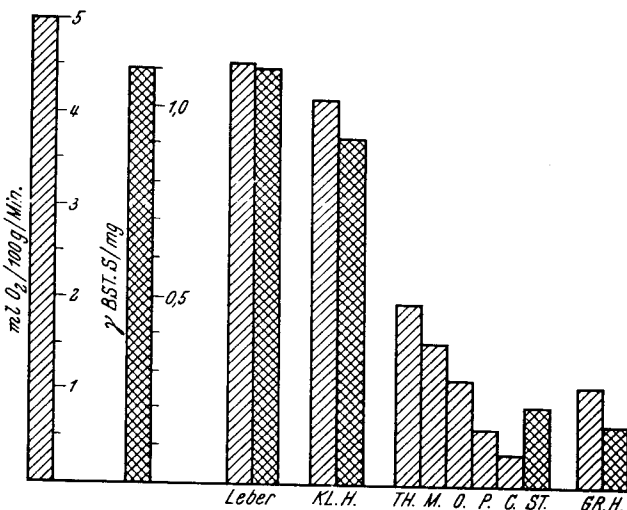


Abb. 3. KL. H. = Kleinhirn, TH. = Thalamus, M. = Mesencephalon, O. = Med. obl., P. = Gl. pallidus, C. = Corp. callosum, ST. = Hirnstamm, GR. H. = Großhirn

entnommenen Hirngewebsstückchens war aber nicht möglich, weshalb parallele Untersuchungen mit wesentlich höherer spezifischer Aktivität folgen werden. Bei den derzeit erreichbaren spezifischen Aktivitäten liegt jedoch die Autoradiographie beim Menschen noch in weiter Ferne.

5. Vergleich zwischen dem Sauerstoffverbrauch von Hirngewebschnitten und der in unseren Untersuchungen gefundenen Konzentration der BSTS.

Im Hirngewebe: Wie Abb. 3 zeigt, ergibt sich eine gewisse Übereinstimmung in der relativen Größe beider Werte. Die Angaben über den Sauerstoffverbrauch von Hirnschnitten wurden von OPITZ übernommen³².

6. Relation der wirksamen Mengen von LSD.-25 und BSTS. beim Menschen: Wir haben auch versucht, durch Umrechnung der im Tierversuch gewonnenen Werte auf den Human-Versuch einen Hinweis auf die Größenordnung der ins Gehirn übergetretenen Mengen beider Substanzen zu gewinnen. Dabei wurden 100 γ -LSD.-25 als wirksam angenommen, wie aus zahlreichen Untersuchungen bekannt ist, und 10 g BSTS., wie wir (ARNOLD und HOFMANN)⁵ es in einer früheren Arbeit zeigen konnten. Die Angabe über die Konzentration von LSD.-25 im Gehirn wurde von ROTHLIN und Mitarbeiter³⁷ übernommen und in einer eigenen, noch unveröffentlichten Arbeit bestätigt. Die daraus errechneten wirksamen Mengen stehen in einem molaren Größenverhältnis von BST. S. : LSD.-25 = 60.000 : 1.

7. Chromatographie und Radio-Chromatographie: Im Chromatogramm konnten in den untersuchten Leber- und Hirnhomogenaten regelmäßig folgende Dikarbonsäuren nachgewiesen werden: Milchsäure, Brenztraubensäure, Äpfelsäure und Bernsteinsäure. Quantitativ am stärksten war sowohl in der Leber als auch im Gehirn die Milchsäure vertreten. Aus dem Gehirn-Homogenat fand sich im Chromatogramm immer ein knapp über der Milchsäure liegender Fleck, den wir als Lakton-Milchsäure auffaßten. In absteigender Reihenfolge der nachzuweisenden Substanzen folgen Brenztraubensäure, Äpfelsäure und Bernsteinsäure, die immer nur in Spuren vorhanden war. Eine quantitative Auswertung erfolgte nicht. In den Radio-Chromatogrammen fand sich die stärkste Aktivität ebenfalls als Milchsäure, eine geringe Aktivität als Äpfelsäure, nur Spuren als Bernsteinsäure (Abb. 4).

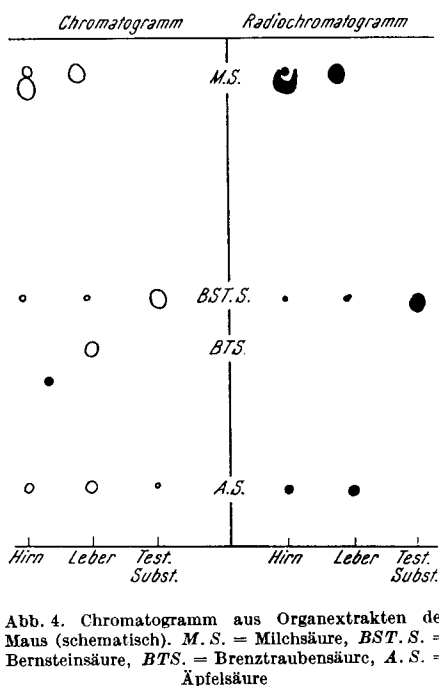


Abb. 4. Chromatogramm aus Organextrakten der Maus (schematisch). M. S. = Milchsäure, BST. S. = Bernsteinsäure, BTS. = Brenztraubensäure, A. S. = Äpfelsäure

8. Errechnung eines Quotienten als Stoffwechselgröße bei BSTS.-Belastungen: In einer früheren Arbeit, die sich mit BSTS.-Belastungen bei normalen Kontrollpersonen, lysergierten Pat. und Schizophrenen beschäftigte, war bei der Bestimmung der Serumkonzentration der BSTS. aufgefallen, daß die Serumwerte der BSTS. im Verlauf der Injektion von 10 g BSTS., die in einem genau eingehaltenen zeitlichen Ablauf erfolgte, deutliche Unterschiede in den einzelnen untersuchten Gruppen zeigten. LSD.-25-Pat. und Schizophrene erreichen weitaus höhere Konzentrationen von BSTS. im Serum als normale Kontrollen. Wir stellten damals diese erhobenen Befunde zur Diskussion und sprachen in Ermangelung eigener oder aus der Literatur bekannter Erfahrungen über dieses spezielle Stoffwechselgebiet die Vermutung aus, daß es sich hierbei wohl, allgemein gesprochen, um eine Störung im Kohlehydratstoffwechsel handeln müsse, d. h. daß auf Grund der erhobenen Befunde ein verzögerter Einbau von BSTS. bei LSD.-25-Pat. und Schizophrenen anzunehmen war.

Nachdem nun durch den Tierversuch die Konzentrationsverhältnisse der zugeführten BSTS. in den hauptsächlichsten Organen bekannt sind, ist es vielleicht doch am Platz, einen Schritt über die in unserer vorigen Arbeit bewußt sehr vorsichtig gehaltenen Feststellungen hinauszugehen.

Wie weiter oben gezeigt werden konnte, sind die Konzentrationen der BSTS. bei Belastung im tierischen Organismus in jenen Organen, die die Hauptmasse des Körpergewichts ausmachen (Leber, Muskulatur, auch Teile des Gehirns) in grober Annäherung ziemlich gleich, in der Niere sogar höher als 1 γ /mg. Aus diesem Grund erscheint es uns doch gerechtfertigt, für eine engbegrenzte Fragestellung eine etwa gleichmäßige Verteilung der zugeführten BSTS. im Organismus anzunehmen.

Tabelle 2

		Normal			LSD. 25			Schizo		
Zeit (Minuten)	Injektion Menge (g)	BSTS. (mg%)	Qu.	BTS. (mg%)	BSTS.	Qu.	BTS.	BSTS.	Qu.	BTS.
10	2,5	2,2	1,81	< 1,0	14,0	0,21	2,4	12,3	0,25	—
20	5,0	2,5	2,44	< 1,0	15,3	0,35	2,3	21,5	0,29	2,4
30	7,5	5,2	2,32	< 1,0	16,8	0,66	2,3	31,0	9,30	2,8
40	10,0	11,2	1,40	1,0	13,6	1,14	1,3	32,0	0,44	3,8
60	—	4,2	4,50	< 1,0	3,5	4,69	< 1,0	13,6	1,13	3,2

$$\text{Qu.} = \frac{\text{mg/kg Gewebe}}{\text{mg/l Blut}}$$

BSTS. = Bernsteinsäure
BTS. = Brenztraubensäure

} im Serum

Auf Grund dieser Annahme wurde der in der Tabelle 2 angegebene Quotient auf folgende Weise errechnet. Die in der entsprechenden Zeit

injizierte Menge an BSTS. wurde um den Betrag verringert, der infolge der gefundenen BSTS.-Konzentration im Serum als im Blut zirkulierend angenommen wurde, und aus der Differenz (injizierte Menge BSTS. minus zirkulierende Menge BSTS.) die Konzentration im Gewebe des Pat. errechnet.

VI. Diskussion

Mit der im Tierversuch erfolgten Messung der Radioaktivität von aus zugeführter BSTS. stammendem C^{14} konnte bewiesen werden, daß BSTS. oder ein aus ihr hervorgegangenes Produkt unter physiologischen Bedingungen der Bluthirnschranke (s. den gleichzeitig erfolgten Farbstofftest) diese passiert. Daß nicht störende Blutaktivität eine Rolle spielen konnte, geht aus der angewandten Entblutungs- und Spülungstechnik hervor.

Die Verteilung der Aktivitäten in den verschiedenen Hirnteilen erwies sich mit Ausnahme des Kleinhirns als etwa gleichförmig. Die im Kleinhirn gefundenen höheren Aktivitäten könnten zum Teil in der Möglichkeit nicht völliger Blutfreiheit des Vertebralisgebietes bei Spülung durch die Carotis begründet sein.

Aus den zeitlichen Abläufen der BSTS.-Werte in Gewebsflüssigkeiten und den klinischen Parallelen bei Blockierung der LSD.-25-Effekte darf vorerst doch der Schluß gezogen werden, daß die gefundenen Aktivitäten im Verbands der BSTS. selbst und nicht in dem eines aus ihr etwa in der Leber gebildeten Zweitproduktes die Bluthirnschranke passiert haben.

Zur feineren histologischen Differenzierung der aufgenommenen Aktivitäten wurde die Autoradiographie eingesetzt. Im Hinblick auf versuchsmäßig peinlichst konstant gehaltene Faktoren der Zeitreihen der Expositionen und Entwicklungsdauer muß die unterschiedliche Aktivität innerhalb des feingeweblichen Aufbaues einer spezifischen, divergenten Konzentration der Aktivsubstanz zugesprochen werden. Die Skala der Größenordnung der gefundenen Aktivität verlief dabei (hoch zu niedrig): vom Kleinhirn über Körnerzellschicht, Stammganglien, Lobus limbicus, uncus gyri hippocampi und cortex der untersuchten Parieto-okzipital-Region zur weißen Substanz des Hemisphärenmarks.

Diese Reihung war in Parallelen zu bringen mit Verhältnissen, wie sie nach den Befunden von OPITZ³² über den O_2 -Verbrauch der entsprechenden Hirnabschnitte angenommen werden dürfen. Die Gegenüberstellung zweier verschiedener, unter ganz anderen experimentellen Bedingungen gewonnener Befunde ist sicher nicht ohne theoretisches Interesse: Die BSTS. steht doch nach den klinischen Ergebnissen im Brennpunkt unseres Interesses am KH.-Stoffwechsel des Gehirns. Als Mitglied des Citronensäurezyklus greift sie am Umsatzpunkt des anoxybiotischen in den

Atmungsschenkel der Glykolyse ein, andererseits steht sie als Substrat des WARBURG-KEILING-Systems direkt im Atmungsvorgang^{36, 26}. Außerdem ist bekannt, daß der Zusatz von C-4-Dicarbonsäuren zu Gewebshomogenaten im Versuchsansatz zu einer beträchtlichen, bis aufs Mehrfache der normalen reichenden Erhöhung des O₂-Verbrauches führt²⁵. Diese enge Verbindung der Atmung und Glykolyse in der Klammer der BSTS. läßt sich auch gesetzmäßig am MAYERHOF-Quotienten ausdrücken. Auch die Untersuchungen von LEIPERT²⁷ unter hypoxämischen Versuchsbedingungen über das Verhalten der Glykolyse weisen in dieselbe Richtung. Die ausgeschnittenen Befunde möchten wir zum Beleg der Annahme verwendet sehen, daß die gefundene enge Relation O₂-Verbrauch—BSTS.-Aufnahme nicht Zufall ist, sondern ein Charakteristikum eines Stoffwechselvorganges, von dem die BSTS. nur den durch die geeigneten Untersuchungen sichtbar gemachten Anteil darstellt.

Die Aktivität im histologischen Bild fand sich nun vorwiegend in den Ganglienzellen selbst* und da wieder im Zytoplasma mit Akzentuierung der Kernrandzonen. Dies deckt sich mit unserem Wissen über die Bedeutung des Mitochondrienapparats^{20, 21} — der bekanntlich im Zytoplasma liegt — und der Annahme, daß vorbereitende Schritte der Atmung und Endoxydation im besonderen an Funktionen von Elementen um die Kernrandzone gebunden sind.

Die Übertragung der Gültigkeit der gezeigten Befunde mittels Autoradiographie auf menschliches Gehirn und Gewinnung der Präparate mittels Lobotomie steht allerdings noch aus, doch laufen weitere Versuche in dieser Richtung. Wir glauben jedoch schon jetzt, daß sie keine prinzipiellen Abweichungen ergeben werden.

Die gleichzeitige Anwendung der Chromatographie und Radiographie am selben Schnitt ließ schließlich den Beweis erbringen, daß sich Aktivität in allen Mitgliedern des Citronensäurezyklus, die untersucht werden konnten, fand und somit die Aktivität auch aus diesem Grunde im Verbands der BSTS. in das Gehirngewebe gelangt sein muß. Damit scheint die arbeitshypothetische Annahme, daß die zugeführte BSTS. tatsächlich in den KH.-Stoffwechsel der Gehirnnervenzelle eingebaut wird, belegbar und die folgenden Überlegungen berechtigt.

Die Relationen LSD. 25—BSTS. ergeben sich aus der Übertragung der in den gezeigten Tierversuchen gefundenen Werte auf den Menschen unter Berücksichtigung der beim Menschen gefundenen Blut- und Liquor-

* Wieweit dem Glia-Zell-Apparat eine Bedeutung hinsichtlich der untersuchten Stoffwechselvorgänge zukommt, darüber kann auf Grund unserer Untersuchungen nichts ausgesagt werden. Denn die autoradiographischen Bilder erlauben bei ungefärbten Schnitten keine Differenzierung zwischen kleinen Ganglienzellen und Gliaelementen. Die großen Ganglienzellen sind jedoch eindeutig als solche zu erkennen.

spiegel, ihrer zeitlichen Veränderungen und den parallelen klinischen Syndromen. Ein Verhältnis von LSD. zu BSTS. wie 1 : 60000 (Molar zu Molar) als wirksame Beziehung in der Gehirnnervenzelle läge durchaus in der Linie der Annahme, daß das LSD.-25 oder ein aus ihm hervorgegangener Stoff (Reaktorstoff, R) als Fermentblocker in einem System arbeitet. Erst bei einem Überschuß von 60000 : 1 würde die zugeführte BSTS. den Block unwirksam machen. Dann könnte man durchaus annehmen, daß die LSD.-25-Blockierung am anoxybiotischen Schenkel der Glykolyse sitzt und ein hoher Überschuß von BSTS. als Glied sowohl des Citronensäurezyklus als auch als Substrat der Atmung eine wesentliche Intensivierung des oxybiotischen Schenkels der Glykolyse bewirkt und damit ein Ausweg eröffnet wird. Hält man an der Annahme fest, daß der Mechanismus des LSD.-25 ein Modell der in bestimmten Akutellsyndromen vorliegenden spezifischen Stoffwechselstörung des schizophrenen Prozesses darstellt, und berücksichtigt man die Möglichkeit des Unterbrechungseffekts der BSTS. bei diesen Syndromen, dann könnte die spezifisch-schizophrene Stoffwechselstörung an bestimmten Nervenzellengruppen dem gleichen Mechanismus folgen.

In folgenden sollen jene Möglichkeiten überlegt werden, die unter dem globalen Begriff der spezifisch-schizophrenen Stoffwechselstörung denkbar erscheinen.

Die Störung des Fermentsystems kann in einem passageren Leistungszusammenbruch gelegen sein, wenn dieses System labil angelegt ist, vielleicht bedingt durch eine geringere im direkten Sinn genbedingte Strukturmodifikation des Apoferments. Es könnte aber auch ein rein quantitatives Versagen vorliegen, indem die Fermentmitgift zu gering ist, um physiologischen Spitzenbelastungen standzuhalten. Schließlich ergebe sich die Möglichkeit eines Fermentaufbrauches (EDINGER)¹⁵.

In allen drei Fällen wäre der zur Störung führende Faktor nur eine — global gesehen — Überbeanspruchung des Systems im Rahmen seiner normalen Funktion.

An Stelle dieser Teilglieder könnte man die Annahme setzen, daß Eingriffe von im Körper selbst gebildeten Stoffen am Fermentsystem den Zusammenbruch bedingen, ein Vorgang, wie er durch manche Erklärungen des Mezcalineingriffs^{12, 33} bzw. LSD.-25-Effekts nahegelegt wird; dann wäre nur die potentielle Möglichkeit des Versagens in der anlagemäßig bedingten Fermentmitgift gelegen, die Aktualisierung aber erfolgte über einen Außenfaktor, der nicht im Rahmen der Beanspruchung durch die normale Funktion, sondern in einem Eingriff eines pathologischen Mechanismus läge.

Auch diese Faktorengruppe kann mit dem Stellenwert der Austauschbarkeit vorgestellt werden, da die Möglichkeiten eines Eingriffes im Sinne von Substratwiderstreit eines pathologischen Stoffs mit dem Normal-

stoff (Fermentblocker), eines Widerstreites mit dem Koferment und den Angriff eines unspezifischen Agens, das nur die Oberflächenstruktur und Ausdehnung des funktionstragenden Ferments variiert und damit die Systemwirksamkeit zerstört (Serotonin ?)^{45, 44}, gegeben sind.

Es wäre aber auch möglich, daß der hypothetische Reaktorstoff in jedem Organismus entstehen kann, oder aus erbgenetischen Gründen nur in bestimmten Organismen. In diesem zweiten Fall könnten die Gene für die Fermentmitgiftstörung an bestimmten Nervenzellen und für die Bedingung des Entstehens des Reaktorstoffs des Organismus identisch, verschieden, aber gekoppelt, und schließlich selbständig variierend sein.

Nach dem derzeitigen Stand der Forschung gibt es für manche der gezeigten Möglichkeiten Hinweise. Abgesehen von diesen qualitative Austauschbarkeit zeigenden Faktoren muß aber noch ein quantitativer Gesichtspunkt berücksichtigt werden, insofern, als er das Verhältnis zwischen anlagebedingter Störung des Fermentsystems und möglichem Reaktorstoff betrifft. Der Stellenwert der Anlage könnte dann zwischen sehr groß und sehr klein und der des Reaktorstoffs reziprok dazu variieren.

Zu den gezeigten Gedankengängen soll nun der Quotient $\frac{\text{mg BSTS./kg Gewebe}}{\text{mg BSTS./l Blut}}$ in Beziehung gebracht werden. Ein Wert von mehr als 1,0 bedeutet, daß die errechnete Konzentration im Gewebe höher liegt als im Blut, und dies war bei allen unseren Normalpersonen der Fall. Ein Wert unter 1 bedeutete das Gegenteil und bei allen LSD.-25-Pat. und allen Schizophrenen lag der Quotient weit unter 1. Dies bedeutet vielleicht, daß der Einbau der BSTS. wesentlich gestört war, sodaß eine erhöhte BSTS.-Konzentration im Serum verbleiben mußte.

Betrachtet man die zeitlichen Verhältnisse, so ergibt sich eine weitere interessante Feststellung. Zur gleichen Zeit etwa, in der sich während einer BSTS.-Injektion das LSD.-25-Syndrom blockieren ließ, stieg der gezeigte Quotient auch über 1,0 an, während dies bei Schizophrenen niemals beobachtet wurde.

Natürlich sind die aus den Blut- bzw. Liquorwerten errechneten BSTS.-Konzentrationen in keiner Weise ein Indikator für den Stoffwechselanteil des Vorganges an den Gehirnnervenzellen selbst, der ja nur minimal sein kann. Sondern es muß angenommen werden, daß die gleichen Stoffwechselsysteme im Bereich der Leber bzw. der Muskulatur für die gezeigten Verschiebungen der Quotienten verantwortlich zu machen sind. Dem entspricht ja auch die Tatsache, daß nur ein Bruchteil des LSD.-25 im Gehirn selbst wiedergefunden werden kann und daß das LSD.-25 eine sichergestellte, wenn auch passagere Veränderung der entgiftenden Funktion der Leber bedingt, die ihren Höhepunkt zwischen der 20. und 30. Minute nach per-os-Gabe erreicht, wie wir mittels der Methode gleichzeitiger Brom-Phthalein-Belastung nachweisen konnten.

Bezüglich der angenommenen Beeinträchtigung der Leberfunktion bei den erwähnten schizophrenen Zustandsbildern sei auf die entsprechende Literatur verwiesen¹⁸.

Die sehr erheblichen Abweichungen des Quotienten bei allen untersuchten Schizophrenen werden wir an einem größeren Material mit einer C¹⁴-BSTS. höherer spezifischer Aktivität weiter verfolgen.

Dann wird sich erst ergeben, wie weit dieser Befund ein diagnostisches Kriterium darzustellen geeignet ist.

Erklärt kann er vorerst nur so werden, daß angenommen werden muß, daß jene erbgenetisch präformierte Fermentstörung, von der wir annehmen, daß ihre Aktualisierung die schizophrene Vollzugsstörung hervorruft, nicht nur in bestimmten Hirnsystemen vorliegt, sondern auch im Bereich der Leber und Muskulatur präformiert ist. Ist sie aktualisiert, so würde sie ein Glied in einer Kette darstellen, dessen letztes sichtbares die abnorme Einbaufähigkeit des betreffenden Organismus für BSTS. bei Belastung mit dieser Substanz darstellt.

VII. Zusammenfassung

Ausgehend von der klinischen Erfahrung, wonach BSTS. instande war, passager das LSD.-25-Syndrom zu unterbrechen, wurden experimentelle Untersuchungen angestellt, die den Übertritt von BSTS. in das Gehirn belegen und Auskunft über das Verhalten der BSTS. im Stoffwechsel des Gehirns geben sollten.

Mit ¹⁴C-BSTS. konnte an der Maus nicht nur das Übertreten der BSTS. durch die Bluthirnschranke in das Gehirn erwiesen werden, sondern es gelang auch mit Hilfe der Autoradiographie, chromatographischer und radiochromatographischer Untersuchungen von Gewebsextrakten, die Verteilung der BSTS. im Organismus sowie in den einzelnen Zellelementen des Gehirns darzustellen.

Schließlich wurde im Zusammenhang mit früheren Arbeiten versucht, an Hand eines errechneten Quotienten bei BSTS.-Belastungen die angenommene Störung im Glucose-Stoffwechsel bei LSD.-25-Vergiftungen und Schizophrenen auch im Rahmen unserer Untersuchungen zahlenmäßig zu verifizieren.

Über die Art der Stoffwechselstörung bei LSD.-25-Vergiftungen und Schizophrenen werden abschließend theoretische Überlegungen angestellt.

Literatur

¹ AGNEW, N. und A. HOFFER: Nicotinic acid modified lysergic acid diethylamide psychosis. *J. ment. Sci.* **101**, 12 (1955). — ² AMIN, A. H., T. B. B. CRAWFORD und J. H. GADDUM: zit. nach ERSPAMER (16) *J. Physiol. Brit.* **126**, 518 (1954). — ³ ARNOLD, O. H.: Untersuchungen zur Frage des Zusammenhanges zwischen Erlebnissvollzug und Kohlehydratstoffwechsel.

- Wien. Z. Nervenhk. 10/1, 85 (1954). — ⁴ ARNOLD, O. H.: Schizophrener Prozeß und schizophrene Symptomenverbände. Wiener Beiträge zur Neurologie und Psychiatrie. Bd. IV. Wien: Maudrich. 1955. — ⁵ ARNOLD, O. H. und G. HOFMANN: Untersuchungen über Bernsteinsäureeffekte bei LSD-25-Vergiftungen und Schizophrenien. Wien. Z. Nervenhk. 11/1, 92 (1955). — ⁶ BASFORD, R. E., S. MII und D. E. GREEN: zit. nach GREEN (20) Federation Proc. 14, 178 (1955). — ⁷ BILLEK, G.: Eine neue Variante der Synthese der 2,3-¹⁴C-Bernsteinsäure. Mh. Chem. 86, 3, 502 (1955). — ⁸ BOYD, G. A.: Autoradiography in biology and medicine. Academ. Press, Inc. New York. 1955. — ⁹ BOYD, E. S., E. ROTHLIN, J. F. BONNER, I. H. SLATER und H. C. HODGE: Preliminary studies on the metabolism of lysergic acid diethylamide. J. Pharmacol. (Am.) 113, 6 1955. — ¹⁰ BUSCAINO, G. A. und N. FRONGIA: Modificazioni biochimiche, elettroencefalografiche, istochimiche ed istopatologiche in cani, durante l'intossicazione sperimentale acuta e cronica da dietilamide dell'acido lisergico. Acta neurol. Napoli 8, 5 (1953). — ¹¹ BROWMAN, T.: The permeability of the cerebrospinal vessels in normal and pathological conditions. Copenhagen: Ejnar Munksgaard. 1949. — ¹² CLARK, L. C., R. P. FOX, F. BENNINGTON und R. MORIN: Effect of mescaline, lysergic acid diethylamide and related compounds on respiratory enzyme activity of brain homogenates. Fed. Proc. 13, 27 (1954). — ¹³ CORREALE P.: The occurrence and distribution of 5-oxytryptamin in the central nervous system of vertebrates. J. neurochem. 1, 1 (1922). — ¹⁴ DAWSON, R. M. C., zit. nach HIMWICH (22): Biochem. et Biophys. Acta 2, 548 (1953). — ¹⁵ EDINGER, L.: Eine neue Theorie. Halle: Volkmann-Sammlung, 106. 1894. — ¹⁶ ERSPAMER, V.: Das enterochromaffine System und 5-oxytryptamin. Triangel, Sandoz Z. med. Wissensch. 2/4, 129 (1955). — ¹⁷ GADDUM, J. H. und A. HAMEED KHAN, zit. nach ESPAMER (16): Brit. J. Pharmac. 9, 240 (1954). — ¹⁸ GEORGI, F. et al.: Schweiz. med. Wschr. 1951, 81. — ¹⁹ GERSHON, S. und E. M. TRAUTNER: The treatment of depressiv psychosis with sodium-succinate. The Med. J. of Australia, August 21, 291 (1954). — ²⁰ GREEN, D. E.: The structure of electron transport system of mitochondria. Conférences et rapports. 3ième Congrès international de biochimie, S. 281. 1955. — ²¹ GREEN, D. E., S. MII und P. M. KOHOUT, zit. nach GREEN (20). — ²² HIMWICH, H. E. und W. A. HIMWICH: Biochemistry of the developing nervous system. Academic Press Inc. New York. 1955. — ²³ JORGENSEN, E. C., J. A. BASSHAM, M. CALVIN und B. M. TOLBERT, zit. nach BILLEK (7): J. Amer. chem. Soc. 74, 2418 (1952). — ²⁴ KALBE, H.: Papierchromatographie aliphatischer Dikarbonsäuren. Hoppe-Seylers Z. 297, 19 (1954). — ²⁵ LANG, K.: Der intermediäre Stoffwechsel. Berlin: Springer-Verlag. 1952. — ²⁶ LARDY, H. A.: Energetic coupling and the regulation of metabolic rates. Conférences et rapports. 3ième Congrès international de biochimie, S. 287. 1955. — ²⁷ LEIPERT, TH.: Stoffwechsel und vegetative Regulation. Acta neuroveg. Wien 1, 1 (1950). — ²⁸ LEWIS, J. L. und H. MCILWAIN: The action of some ergot derivatives mescaline and dibenamine on the metabolism of seperated mammalian cerebral tissues. Biochem. J. (Brit.) 57, 680 (1954). — ²⁹ LIDDEL, D. W. und H. WEIL-MALHERBE: The effect of methedrine and of lysergic acid diethylamide on mental processes and on the blood adrenalind level. J. Neurosurg. Neurol. Psychiatr. 16, 7 (1953). — ³⁰ Mayer-Groß, W., W. MCADAM und J. W. WALKER: Further observations on the effect of lysergic acid diethylamide. J. ment. Sci. 99, 804 (1953). — ³¹ NEUMANN, K. H.: Grundriß der Gefrier-trocknung. Göttingen. 1952. — ³² OPITZ, E.: 3. Colloquium der Gesellschaft für physiologische Chemie, S. 66. Moosbach: Springer-Verlag. 1952. — ³³ PATZIG, B. und W. BLOCK: Zur Auffassung des schizophrenen Prozeß-

geschehens nach Tierversuchen mit C^{14} -radioaktivem Meskalin. *Naturw.* 40, 1 (1953). — ³⁴ SANADI, D. R. und J. W. LITTLEFIELD, zit. nach LANG (25): *J. biol. Chem. (Am.)* 193, 683 (1951). — ³⁵ SCHWERIN, P., S. P. BESSMAN und H. WAELSCH, zit. nach HIMWICH (22): *J. biol. Chem. (Am.)* 184, 37 (1950). — ³⁶ SLATER, E. C.: Respiratory chain phosphorylation. *Conferences et rapports*. 3ième Congrès international de Biochimie, S. 264. 1955. — ³⁷ STOLL, A., E. ROTHLIN, J. RUTSCHMANN und W. R. SCHALCH: Distribution and fate of ^{14}C -labeled lysergic acid diäthylamide (LSD-25) in the animal body. *Experientia* 11, 396 (1955). — ³⁸ STOLL, A., J. RUTSCHMANN und A. HOFMANN: Über die Synthese von C^{14} -Diäthylamin und C^{14} -Lysergsäure-diäthylamid. *Helv. chim. Acta* 37/3, 820 (1954). — ³⁹ TRAUTNER, E. M., E. R. TRETHEWIE und S. GERSHON: The analeptic effect of succinate in coma and in confusional states. *The Med. J. of Australia* Decemb. 5, 1953, 848. — ⁴⁰ TRAUTNER, E. M., S. GERSHON und G. E. DUERRHEIM: Treatment of schizophrenia by combined barbiturate-succinate therapy. *The Med. J. of Australia*, Juli 31, 1954, 181. — ⁴¹ TWAROG, B. M. und I. H. PAGE, zit. nach ESPAMER (16): *Amer. J. Physiol.* 175, 157 (1953). — ⁴² WAELSCH, H.: Glutamic acid and cerebral function. *Adv. in Prot. Chem.* 6, 299 (1951). — ⁴³ WEIL-MALHERBE, H.: Metabolism and function in nervous tissue. Cambridge, At the University Press. 1952. — ⁴⁴ WOOLEY, D. W. und E. SHAW: Some neurophysiological aspects of serotonin. *Brit. med. J.* 2, 122 (1954). — ⁴⁵ WOOLEY, D. W. und E. SHAW: *J. biol. Chem. (Am.)* 203, 69 (1953).