

(Aus der Psychiatrischen Universitätsklinik zu Fukuoka, Japan
[Vorstand: Prof. Dr. M. Shimoda].)

Studien über die Fermente im Gehirn.

I. Mitteilung.

Über Oxydase, Katalase, Glykolyse und Glykogenolyse im Kaninchengehirn unter verschiedenen Bedingungen.

Von

Dr. Hirotohi Maruyama, Generalarzt.

(Eingegangen am 7. Juli 1934.)

I. Einleitung.

Um den Beziehungen zwischen Gehirnerkrankungen und Gehirnfermenten nachzugehen, bestimmte ich seit Januar vorigen Jahres (1932) zunächst bei normalen, dann bei strychninisierten, bei insulinisierten, bei mit Luminal vergifteten, bei alkoholisierten und bei mit Atropin in Erregungszustand versetzten Kaninchen gleichzeitig die Oxydase, Katalase, Glykolyse und Glykogenolyse im Gehirn.

II. Die Untersuchungsmethode.

1. Die Bestimmung der Gehirnoxydase wurde nach den colorimetrischen Methoden von *Stämmler* und *Sander* (9) folgendermaßen ganz aseptisch ausgeführt: Um die Gehirnhemisphäre möglichst schnell aus dem Schädel herauszunehmen, spaltet man nach rascher Dekapitation mit einem großen Messer den Kopf entlang der Sagittallinie in zwei Teile. Die beiden Hemisphären werden sofort herausgenommen und nach möglichst genauer Entfernung der Hirnhautgefäße in einem Mörser zu einer breiigen Masse zerrieben. Darauf gibt man 0,1 g Gehirnbrei in eine 50 ccm Meßflasche und fügt je 2 ccm einer $\frac{M}{150}$ Alpha-Naphtol- und $\frac{M}{150}$ Paraphenyldiaminlösung, sowie 1 ccm einer Phosphat-Puffermischung nach *Sørensen* ($p_H = 7,7$) hinzu. Dann schüttelt man 30 Sek. lang. Nach 20 Min. langem Stehenlassen des Gemisches bei 37° C im Brutschrank setzt man 10 ccm Xylol zu, und nach 30 Sek. langem Schütteln zentrifugiert man es 5 Min. lang. Diese Flüssigkeit stellt man im *Dubosq'schen* Colorimeter in Vergleich mit einer 10 mm dicken Schicht einer 0,0006%igen Fuchsinlösung. Als Kontrolle wird das von Gehirnbrei freie Gemisch gleichzeitig wie die oben erwähnte Flüssigkeit behandelt und mit einer 10 mm dicken Schicht einer 0,0002%igen Fuchsinlösung verglichen.

2. Der Gehalt an Katalase des Gehirns wurde durch die Kaliumpermanganatmethode in folgender Weise bestimmt: In eine 100 ccm Meßflasche gibt man 0,5 g Gehirnbrei. Man setzt 50 ccm einer, einer neutralisierten Puffermischung zugesetzten, 1%igen Wasserstoffperoxydlösung ($p_H = 7,7$) zu. Nach kräftigem Schütteln wird 10 ccm des Gemisches, worin 0,1 g Gehirnmasse enthalten ist, sofort in einen Kolben gegeben und nach Zusetzung einer 5 ccm 20 vol.-%igen Schwefelsäure mit einer $\frac{N}{10}$ Kaliumpermanganatlösung titriert und dann wie gewöhnlich behandelt. Darauf wird das übrige Gemisch bei 37° C im Brutschrank 3 Stunden lang stehen

gelassen und nach $\frac{1}{2}$, 1, 2 sowie 3 Stunden jedesmal wie oben beschrieben verarbeitet.

3. Die Bestimmung der Glykolyse und Glykogenolyse im Gehirn wurde vor allem streng aseptisch (ohne Zusetzung von Optochin) ausgeführt. Für die Bestimmung der Gehirnglykolyse kam folgendes Verfahren zur Anwendung: 1,5 g Gehirnbrei werden in eine 50 ccm Meßflasche gegeben. Man gibt 13,5 ccm einer, einer Puffermischung zugesetzten, 0,05 % Zucker enthaltenden *Ringer*-Lösung (worin kein Natriumbicarbonat enthalten ist), mit 7,7 p_H dazu und schüttelt. 3 ccm des Gemisches überführt man in einen 15 ccm Meßkolben, worin es mit kolloidalem Eisen wie gewöhnlich enteiweißt wird. Das übrige Gemisch wird darauf bei 37° C im Brutschrank etwa 14 Stunden lang stehen gelassen und in 2, 4 und etwa 14 Stunden jedesmal wie oben erwähnt behandelt. Mit je 5 ccm jeden Filtrates bestimmt man nach der *Bangs*-schen Methode den Reduktionswert. Der Gehalt an Verbrauch des Zuckers beim Stehenbleiben im Brutschrank stellt den glykolytischen Wert des Gehirnes dar. Zur Kontrolle wird gleichzeitig der Reduktionswert des Gemisches, worin 1,5 ccm Aqua destillata und 13,5 ccm der 0,05 % Zucker enthaltenden *Ringer*-Lösung enthalten sind, nach derselben Methode bestimmt.

4. Die Glykogenolyse im Gehirn wurde nach der Glykogenbestimmungs-Mikromethode von *Naka* (10) folgendermaßen bestimmt: In eine 50 ccm Meßflasche gibt man 1,5 g Gehirnbrei und fügt 8,5 ccm einer, einer Puffermischung zugesetzten 0,1 % Glykogen enthaltenden *Ringer*-Lösung (p_H = 7,7) hinzu. Nach Schütteln überführt man 1 ccm des Gemisches in ein mit Kühler versehenes Röhrchen und setzt 1 ccm einer 60 % igen Kaliumhydroxydlösung zu. Dann bestimmt man weiter nach der *Nakas*-schen Methode den Glykogengehalt davon. Darauf wird das übrige Gemisch in gleicher Weise im Brutschrank stehen gelassen, wie bei der Gehirnglykolyse und wie oben beschrieben verarbeitet.

Es ist hier vor allem zu bemerken, daß das Zeitintervall zwischen dem Tode des Kaninchens und dem Beginn der Untersuchung bei der Oxydase etwa $1\frac{1}{2}$, bei der Katalase etwa $3\frac{1}{2}$ und bei der Glykolyse sowie Glykogenolyse etwa $2\frac{1}{2}$ Stunden betrug.

III. Über die Oxydase, Katalase, Glykolyse und Glykogenolyse im Kaninchengehirn unter verschiedenen Bedingungen.

Das Material der Versuche stammte von 14 normalen, 8 strychninisierten, 6 insulinisierten und 5 mit Luminal vergifteten Kaninchen, sowie von je 7 alkoholisierten und mit Atropin in Erregungszustand versetzten Kaninchen. Die Untersuchung wurde bei normalen Kaninchen die ganze Zeit hindurch, bei strychninisierten, bei insulinisierten und bei mit Luminal vergifteten Kaninchen ungefähr zwischen Mai und November, sowie bei alkoholisierten und mit Atropin aufgeregtten Kaninchen zwischen August und Dezember ausgeführt.

Aus den Ergebnissen der Versuche (Tabelle 1) ging hervor, daß der Gehalt an *Katalase* (mit $\frac{n}{10}$ KMnO⁴-Lösung in Kubikzentimeter repräsentiert) bei 0,1 g normalen Kaninchengehirn (etwa $3\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersucht) in kühlem oder kaltem Klima (zwischen Oktober und Mai) eine auffallende Steigerung bis auf 18,0—25,8 ccm (bei 3stündigem Stehenlassen im Brutschrank) zeigt, während sich im Sommer ein geringer

Wert von 13,0 bis 13,8 ccm ergibt. Ferner war zu ersehen, daß es sich auch bei strychninisierten, insulinisierten, mit Luminal vergifteten, alkoholisierten und mit Atropin in Erregung versetzten Kaninchen ähnlich verhielt.

Tabelle 1. Gehalt an Katalase (mit $\frac{n}{10}$ KMnO⁴-Lösung in ccm ausgedrückt) von 0,1 g normalen, etwa 3 $\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersuchten Kaninchenhirn.

Versuchs-Nr.	Versuchsdatum	Zeitpunkt des Stehenlassens bei 37° C in Stunden				
		0	$\frac{1}{2}$	1	2	3
1	24. 2.	4,5		19,4		22,3
2	1. 3.	8,8		17,3	17,9	18,0
3	15. 3.	8,3	16,9	18,6		21,8
4	18. 3.	7,1	17,7	19,6	23,4	25,8
5	24. 5.	8,4	13,8	16,1	17,3	19,6
9	9. 6.	7,2	16,0	16,6	18,6	19,4
10	15. 6.	5,1	12,5	12,6	13,0	13,4
20	21. 7.	5,7	10,9	11,6	12,9	13,0
24	18. 8.	6,2	12,8	13,5	13,7	13,8
32	26. 9.	4,6	14,3	14,9	16,8	18,0
38	20. 10.	3,8	14,8	16,0	17,9	19,0
45	22. 11.	4,3	16,8	17,3	18,9	21,0
48	21. 12.	5,3	13,0	14,1	18,7	24,8
Im Mittel als ganzes		6,1	14,5	16,0	17,2	19,2
Im Mittel in S. v. K.		5,1	13,2	14,0	15,3	16,0
Im Mittel in I. o. K.		5,2	14,4	15,0	16,1	17,5
Im Mittel in L.		6,4	13,6	14,5	15,9	16,8
Im Mittel in A.		4,8	14,3	15,2	17,2	19,3

Anmerkungen. Der Gehalt an Katalase des Kaninchengehirns zeigt im Sommer eine auffallende Abnahme. Daher müssen die Resultate des normalen und des vorbehandelten Tieres im Versuchsdatum einander entsprechen, damit man beide miteinander vergleichen kann. Die folgenden Bezeichnungen der Tabelle 1 und 3 geben die Durchschnittswerte der Resultate der beim normalen Tier angestellten Versuche an, deren Daten für die folgenden, vorbehandelten Tiere ungefähr geeignet waren.

Erläuterung der Tabellenbezeichnungen in Tabelle 1 und 3.

Bezeichnung im Durchschnittswert der Resultate	Von Versuchen in untenstehenden Nr. bei normalen Tieren	Bei vorbehandelten Tieren
„Im Mittel in S. v. K.“	20, 24, 32, 38	Für durchschnittliches Versuchsergebnis von strychninisierten Tieren (vor dem Krampf)
„Im Mittel in I. o. K.“	9, 10, 32, 38	Für dasselbe von insulinisierten Tieren (ohne Krampf)
„Im Mittel in L.“	5, 9, 20, 24, 32	Für dasselbe von mit Luminal vergifteten Tieren
„Im Mittel in A.“	24, 32, 38, 45, 48	Für dasselbe von alkoholisierten oder mit Atropin aufgereizten Tieren

Tabelle 2. Der einer 10 mm dicken Schicht einer 0,0006%igen Fuchsinlösung entsprechende, durchschnittliche Gehalt an Oxydase des 0,1 g Kaninchenhirns unter verschiedenen Bedingungen in mm.

Vorbehandlung der Versuchstiere	Zeitpunkt nach dem Tode	Bei Kontrolle	Bei Gehirn- oxydase
Normale Kaninchen	1 Std. 46 Min.	9,3	9,9
Strychninisierte { vor dem Krampf . . .	1 „ 50 „	8,2	8,9
Tiere { nach dem Krampf . . .	1 „ 51 „	8,4	9,0
Insulinisierte { ohne Krampf	1 „ 31 „	9,8	9,0
Tiere { nach dem Krampf . . .	2 „ 6 „	7,7	8,4
Mit Luminal vergiftete Tiere	1 „ 34 „	10,9	9,4
Mit Alkohol eingespritzte Tiere	2 „ 1 „	9,0	11,5
Mit Atropin aufgeregte Tiere	1 „ 53 „	8,4	9,9

Anmerkungen. 1. Bei der Kontrolle wurde hier der einer 10 mm dicken Schicht einer 0,0002%igen Fuchsinlösung entsprechende, durchschnittliche Wert in Millimeter gezeigt. 2. Bei den Versuchen wurden männliche Kaninchen bevorzugt.

Tabelle 3. Der durchschnittliche Gehalt an Katalase (mit $\frac{n}{10}$ KMnO_4 -Lösung titriert) des 0,1 g, etwa $3\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersuchten Kaninchenhirns unter verschiedenen Bedingungen in cem.

Vorbehandlung der Versuchstiere		Zeitpunkt des Stehenlassens bei 37° C in Stunden				
		0	$\frac{1}{2}$	1	2	3
Normale Kaninchen	im Mittel als ganzes . . .	6,1	14,5	16,0	17,2	19,2
	im Mittel in S. v. K. . . .	5,1	13,2	14,0	15,3	16,0
	im Mittel in I. o. K. . . .	5,2	14,4	15,0	16,1	17,5
	im Mittel in L.	6,4	13,6	14,5	15,9	16,8
	im Mittel in A.	4,8	14,3	15,2	17,2	19,3
Strychninisierte	vor dem Krampf	5,7	14,3	15,2	16,1	17,3
Tiere	nach dem Krampf	4,5	13,3	14,8	16,0	17,9
Insulinisierte	ohne Krampf	6,0	13,6	14,5	15,6	16,4
Tiere	nach dem Krampf	5,9	13,2	14,2	15,0	15,7
Mit Luminal vergiftete Tiere		5,0	12,0	13,0	13,9	14,6
Mit Alkohol injizierte Tiere		4,5	14,1	15,7	17,5	19,1
Mit Atropin aufgeregte Tiere		4,7	12,7	13,7	15,1	16,8

Anmerkungen. Die Luminalvergiftung wurde in folgender Weise durchgeführt: Luminalnatrium wurde den 5 Kaninchen getrennt in der Dosis von 0,07 g pro Kilogramm Körpergewicht 4—6 Tage hindurch täglich subcutan eingespritzt. Während nur 1 Fall darunter 3 Tage lang in tiefem, dauerndem Schlaf lag, lagen die übrigen Tiere im oberflächlichen Schläfe, aus dem sie jeden Tag ab und zu erwachten.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen über den Gehalt an *Oxydase* des Gehirns von normalen Kaninchen sowie solchen unter den oben genannten Bedingungen sind in der Tabelle 2 in Durchschnittszahlen zusammengefaßt. Der Gehalt an Oxydase von 0,1 g normalen, etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersuchten Kaninchenhirn wies, wie aus der Tabelle 2 ersichtlich ist, im Vergleich mit einer 10 mm dicken Schicht einer 0,0006%igen Fuchsinlösung, 9,9 mm im Mittel auf. Bei Kaninchen unter den angegebenen Bedingungen (wenn auch bei alkoholisierten

Kaninchen der Gehalt auf 11,5 mm im Mittel absank), wurde fast derselbe Oxydasegehalt wie bei normalen Tieren ermittelt. Daraus geht hervor, daß die Oxydase des Gehirns durch diese Bedingungen keineswegs beeinflußt wird.

Der Gehalt an *Katalase* des Gehirns von normalen und Kaninchen unter den angegebenen Bedingungen ist in Durchschnittszahlen in der Tabelle 3 zusammengestellt. Der Gehalt an Katalase (mit $\frac{n}{10}$ KMnO_4 -Lösung titriert) von 0,1 g normalem Kaninchengehirn (etwa $3\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersucht) betrug bei 3stündigem Stehenlassen im Brutschrank die ganze Zeit hindurch durchschnittlich 19,2 ccm. Während er bei strychninisierten, insulinisierten und alkoholisierten Kaninchen immer fast gleich wie bei normalen Tieren ausfiel, zeigte er bei Kaninchen mit Luminalvergiftung und im Erregungszustand nach Atropinverabreichung eine geringe Abnahme auf 14,6 bzw. 16,3 ccm im Mittel. Daraus ergibt sich, daß die Katalase des Gehirns durch Strychnin, Insulin und Alkohol niemals beeinflußt worden ist, daß sie aber sowohl durch Luminal, das auf das Stammhirn schlafherzeugend wirkt (11 und 12), als auch durch Atropin, das auf das Großhirn erregend wirkt, ein wenig gehemmt wird.

Tabelle 4. Der durchschnittliche Gehalt an Glykolyse des etwa $2\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersuchten Kaninchenhirns in mg-% Zuckerwert.

Vorbehandlung der Versuchstiere	Anfangs-Glucose-gehalt	Gehalt an Gehirnglykolyse			Kontrolle
	Zeitpunkt des Stehenlassens bei 37° C in Stunden				
	0	2	4	etwa 14	
Normale Kaninchen	425,2	121,8	239,4	386,0	432,3
Strychninisierte { vor dem Krampf	490,6	123,5	231,5	396,3	459,4
Tiere { nach dem Krampf	422,9	120,0	204,3	347,6	426,7
Insulinisierte { ohne Krampf	442,7	166,1	295,7	364,4	447,1
Tiere { nach dem Krampf	486,0	128,0	224,9	428,8	456,5
Mit Luminal vergiftete Tiere	424,0	127,4	256,9	427,9	432,0
Alkoholinj. { bei großer Menge	521,8	130,9	216,1	411,3	469,7
zierte Tiere { bei geringerer Menge	503,8	144,9	260,6	427,9	476,1
Mit Atropin aufgeregte Tiere	512,6	136,5	228,5	420,5	467,6

Anmerkungen. 1. Wurde dem Kaninchen Strychninum sulfuricum in der Dosis von 0,4 mg pro Kilogramm Körpergewicht eingespritzt, so bekam das Tier etwa nach 20 Min. ohne Ausnahme einen Krampfanfall. Bei strychninisierten Tieren kamen hier je 4 vor und nach dem Krampf getötete Tiere zur Untersuchung. 2. Bei Injektion von Insulin (Toront) in Dosen von 2,4—3,5 ccm pro Kilogramm Körpergewicht waren 4 Tiere 4—6 Stunden lang von Krämpfen frei, während 2 Tiere nach etwa 4 Stunden einen Krampf bekamen. 3. Alkohol (als eine 10%ige Alkohollösung benutzt) wurde dem Kaninchen in der Dosis von 1,5—5,5 ccm pro Kilogramm Körpergewicht 5—6 Tage hindurch täglich subcutan injiziert. 4. In der Dosis von 1,25—10,0 mg pro Kilogramm Körpergewicht wurde Atropinum sulfuricum dem Kaninchen 5 Tage lang täglich subcutan eingespritzt; dabei befand sich das Tier meist in Aufregung.

Tabelle 5. Der durchschnittliche Gehalt an Glykogenolyse des etwa 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersuchten Kaninchenhirns in mg-% Zuckerwert.

Vorbehandlung der Versuchstiere	Anfangs- Gly- kogen- gehalt	Gehalt an Gehirnglykogenolyse				Kon- trolle
		Zeitpunkt des Stehenlassens bei 37° C in Stunden				
		0	2	4	etwa 14	
Normale Kaninchen	435,8	114,4	194,9	352,8	426,7	
Strychninisierte { vor dem Krampf . .	449,1	80,5	146,5	343,1	475,6	
Tiere { nach dem Krampf . .	446,6	106,5	234,0	360,7	458,1	
Insulinisierte { ohne Krampf	370,9	34,9	144,9	234,1	406,9	
Tiere { nach dem Krampf . .	518,8	237,1	299,6	424,3	449,7	
Mit Luminal vergiftete Tiere	423,5	102,9	179,0	325,9	449,8	
Alkoholinji- { bei großer Menge . .	454,3	82,8	144,7	361,6	496,4	
zierte Tiere { bei geringerer Menge	471,4	115,0	218,6	388,7	450,8	
Mit Atropin aufgeregte Tiere	477,7	105,4	184,5	385,2	471,7	

Anmerkungen. Bei mit Luminal nur in tiefen, dauernden Schlaf versenkten Kaninchen wurde die Glykolyse sowie Glykogenolyse des Gehirnes bei 2- und 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank etwas gehemmt, während sie bei etwa 14stündigem Stehenlassen darin, in den normalen Wert übergingen. Beim oberflächlichen Schlaf blieben sie meist innerhalb normaler Grenzen.

Den Gehalt an Glykolyse und Glykogenolyse im Gehirn von normalen und Kaninchen unter den angegebenen Bedingungen stellte ich in den Tabellen 4 und 5 in Durchschnittswerten zusammen. Die *Glykolyse* im normalen, etwa 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersuchten Kaninchenhirn ergab, wie aus der Tabelle 4 ersichtlich, bei 2- bzw. 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank entsprechend den Befunden von vielen Autoren (1 bis 7) einen hohen Wert von 121,8 bzw. 239,4 mg-% im Mittel (bei etwa 14stündigem Stehenbleiben darin 386,0 mg-% im Mittel). Während sie bei strychninisierten, alkoholisierten und mit Atropin erregten Kaninchen ungefähr innerhalb der normalen Grenzen blieb, zeigte sie beim unter Vermeidung von Krämpfen insulinisierten Kaninchen eine geringe Steigerung bis auf 166,1 und 295,7 mg-% im Mittel (sie ging aber bei etwa 14stündigem Stehenlassen im Brutschrank in den normalen Wert mit 364,4 mg-% im Mittel über) und sank nach dem Krampf auf den normalen Wert mit 128,0 bzw. 224,9 mg-% im Mittel. Die Glykolyse des Gehirns wird also durch die obengenannten Bedingungen nicht beeinflusst mit der einen Ausnahme, daß sie beim (unter Vermeidung von Krämpfen) insulinisierten Kaninchen etwas beschleunigt wird.

Bei mit Luminal nur in tiefen, dauernden Schlaf versenkten Kaninchen wurde die Glykolyse des Gehirns bei 2- und 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank etwas gehemmt, während sie bei etwa 14stündigem Stehenbleiben darin in den normalen Wert überging. Beim oberflächlichen Schlaf blieb sie meist innerhalb normaler Grenzen mit 127,4 bzw.

256,9 mg-% im Mittel. Eine bedeutende Steigerung des Gehaltes an freiem Zucker (Glucose), wie sie nach meiner früheren Erfahrung (13) im Gehirn von mit Luminal nur in tiefen, dauernden Schlaf versenkten Kaninchen gefunden wurde, beruht also auf Hemmung der Glykolyse durch die intensive Wirkung des Luminals auf das Gehirn.

Während die Frage, ob im Gehirn *Glykogenolyse* vorhanden ist oder nicht, noch umstritten ist (5, 7 und 8), führten meine Versuche, wie aus der Tabelle 5 zu ersehen ist, zur Feststellung, daß die Glykogenolyse des normalen Kaninchengehirns (etwa 2½ Stunden nach dem Tode untersucht) bei 2- bzw. 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank einen ebenso hohen Wert von 114,4 bzw. 194,9 mg-% im Mittel (bei etwa 14stündigem Stehenbleiben darin 352,8 mg-% im Mittel) aufweist wie die Glykolyse desselben. Bei strychninisierten Kaninchen wurde die Glykogenolyse vor dem Krampf etwas gehemmt (bei 2- bzw. 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank 80,5 bzw. 146,5 mg-% im Mittel). Sie ging nach dem Krampf in den normalen Wert von 106,5 bzw. 234,0 mg-% im Mittel über; auch bei Kaninchen mit durch Alkohol gelähmtem Gehirn wurde sie ebenso gehemmt, wie vor dem Strychninkrampf und gab bei geringem Mengenverhältnis des Alkohols den normalen Wert. Während sie bei insulinisierten Kaninchen (ohne Krampf) auffallend gehemmt wurde (34,9 bzw. 144,9 mg-% im Mittel), wurde sie nach dem Krampf umgekehrt ebenso deutlich beschleunigt (237,1 bzw. 299,6 mg-% im Mittel) wie in den anderen Geweben (14 und 15). Bei mit Atropin aufgeregten Kaninchen wies sie den ganz normalen Wert von 105,4 bzw. 185,5 mg-% auf. Es ist hier bemerkenswert, daß die Glykogenolyse des Kaninchengehirns nach dem Strychninkrampf normale Werte aufweist, entsprechend dem Befund meiner vorigen Arbeit (13), wonach der Gehalt des Gehirns an Glykogen beim Krampf normale Werte zeigte.

Während bei mit Luminal nur zu tiefem, dauerndem Schlaf gebrachten Kaninchen Glykogenolyse des Gehirns bei 2- und 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank ebenso etwas gehemmt wurde wie bei Glykolyse desselben, zeigte sie beim oberflächlichen Schlaf fast denselben Wert wie bei normalen Tieren. Daraus geht hervor, daß auch bei einer auffallenden Steigerung des Gehaltes an Glykogen, wie sie nach dem Befund meiner vorigen Arbeit (13) im Gehirn von mit Luminal in tiefen, dauernden Schlaf versenkten Kaninchen gefunden wurde, es sich ebenso um Hemmung der Glykogenolyse des Gehirns handelt, wie bei der Glykolyse desselben.

Ferner ist vor allem zu bemerken, daß die Glykogenolyse des Gehirns nur bei 2- und 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank unter den oben genannten Bedingungen gehemmt oder beschleunigt wird, daß sie aber bei etwa 14stündigem Stehenbleiben darin, auch bei strychninisierten (vor dem Krampf), bei alkoholisierten, sowie bei mit Luminal in tiefen, dauernden Schlaf versenkten Kaninchen immer in den normalen Wert übergang, mit der einen Ausnahme, von insulinisierten Kaninchen (ohne

Krampf), bei denen sie auch dann noch etwas gehemmt wird. Bezüglich der Glykolyse verhielten sich unter Vermeidung von Krämpfen insulinisierte, sowie mit Luminal in tiefen, dauernden Schlaf versenkte Kaninchen ähnlich.

IV. Schlußfolgerungen.

1. Der Gehalt an Oxydase beträgt bei 0,1 g normalem, etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersuchtem Kaninchengehirn im Vergleich mit einer 10 mm dicken Schicht einer 0,0006%igen Fuchsinlösung 9,9 mm im Mittel. Bei strychninisierten, mit Luminal vergifteten, alkoholisierten und mit Atropin in Erregungszustand gesetzten Kaninchen wird fast derselbe Oxydasegehalt wie bei normalen Tieren ermittelt.

2. Während der Gehalt an Katalase (mit $\frac{n}{10}$ KMnO_4 -Lösung in Kubikzentimeter ausgedrückt) von 0,1 g normalem Kaninchengehirn (etwa $3\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersucht) im Sommer (meist Juli und August) einen geringen Wert (von 13,0 bis 13,8 cem bei 3stündigem Stehenlassen im Brutschrank) ergibt, weist er im kühlen oder kalten Klima zwischen Oktober und Mai eine bedeutende Steigerung (bis auf 18,0 bis 25,8 cem) auf. Bei Kaninchen unter den obengenannten Bedingungen verhielt er sich ähnlich. Ferner beträgt er die ganze Zeit hindurch durchschnittlich 19,2 cem. Während er bei strychninisierten, insulinisierten und alkoholisierten Kaninchen immer fast gleich wie bei normalen Tieren ausfällt, zeigt er bei Kaninchen mit Luminalvergiftung und im Erregungszustand nach Verabreichung von Atropin eine geringe Abnahme auf 14,6 bzw. 16,8 cem im Mittel.

3. Die Glykolyse im normalen, etwa $2\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersuchten Kaninchengehirn ergibt bei 2- bzw. 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank einen auffallend hohen Wert von 121,8 bzw. 239,4 mg-% im Mittel (bei etwa 14stündigem Stehenbleiben darin 386,0 mg-% im Mittel). Während sie bei strychninisierten, alkoholisierten und mit Atropin in Erregung versetzten Kaninchen ungefähr innerhalb der normalen Grenzen bleibt, zeigt sie beim unter Vermeidung von Krämpfen insulinisierten Kaninchen eine geringe Steigerung bis auf 166,1 bzw. 295,7 mg-% im Mittel und geht nach dem Krampf auf den normalen Wert von 128,0 bzw. 224,9 mg-% im Mittel herunter.

Nur bei mit Luminal in *tiefen, dauernden* Schlaf versenkten Kaninchen wird die Glykolyse des Gehirnes etwas gehemmt, beim oberflächlichen Schlaf aber bleibt sie meist innerhalb normaler Grenzen mit 127,4 bzw. 256,9 mg-% im Mittel.

4. Während die Frage, ob im Gehirn Glykogenolyse überhaupt vorhanden ist oder nicht, bisher noch als umstritten galt, führten meine Versuche zur Feststellung, daß die Glykogenolyse des normalen Kaninchengehirns (etwa $2\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tode untersucht) bei 2- bzw. 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank einen ebenso hohen Wert von 114,4

bzw. 194,9 mg-% im Mittel (bei etwa 14stündigem Stehenbleiben darin 352,8 mg-% im Mittel) aufweist, wie die Glykolyse desselben. Bei strychninisierten Kaninchen wird die Glykogenolyse vor dem Krampf etwas gehemmt (bei 2- und 4stündigem Stehenbleiben im Brutschrank 80,5 und 146,5 mg-% im Mittel) und geht nach dem Krampf in den normalen Wert mit 106,5 und 234,0 mg-% im Mittel über; auch bei Kaninchen mit durch Alkohol gelähmtem Gehirn wird sie ebenso gehemmt wie vor dem Strychninkrampf und gibt bei geringerem Mengenverhältnis des Alkohols den normalen Wert. Während sie bei insulinisierten Kaninchen (ohne Krampf) auffallend gehemmt wird (34,9 bzw. 144,9 mg-% im Mittel), wird sie nach dem Krampf umgekehrt beschleunigt (237,1 bzw. 299,6 mg-% im Mittel). Bei mit Atropin aufgeregten Kaninchen weist sie den ganz normalen Wert von 105,4 bzw. 184,5 mg-% im Mittel auf.

Während bei mit Luminal nur zu *tieferm, dauerndem* Schlaf gebrachten Kaninchen die Glykogenolyse des Gehirns ebenso etwas gehemmt wird wie die Glykolyse, zeigt sie beim oberflächlichen Schlaf fast denselben Wert wie bei normalen Tieren.

5. Während die Glykogenolyse des Gehirnes nur bei 2- und 4stündigem Stehenlassen im Brutschrank durch die obengenannten Bedingungen gehemmt oder beschleunigt wird, ging sie bei etwa 14stündigem Stehenbleiben darin auch bei strychninisierten (vor dem Krampf), bei alkoholisierten, sowie bei mit Luminal in tiefen, dauernden Schlaf versenkten Kaninchen immer in den normalen Wert über. Eine Ausnahme bildeten insulinisierte Kaninchen (ohne Krampf), wo die Glykogenolyse auch dann noch etwas gehemmt wird. Diese Tiere verhielten sich auch bezüglich der Glykolyse ähnlich.

Es sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. S. Mita, Herrn Prof. Dr. M. Shimoda, Herrn Prof. Dr. K. Kodama und Herrn Dozenten Dr. S. Naka für die Anregung und wertvolle Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Zu großem Dank bin ich weiter auch der Vermögensgesellschaft Hattori verbunden, die mir die Mittel zu dieser Arbeit aus dem Beistandsfonds zur Förderung von Forschungen auf dem Gebiet der Naturwissenschaften zur Verfügung gestellt hat. Das gilt auch für die folgende Mitteilung.

(Das Manuskript war abgeschlossen am 12. 10. 1933.)

Literaturverzeichnis.

- ¹ Hirschberg u. Winterstein: Hoppe-Seylers Z. **100**, 185 (1917). — ² Hirschberg: Hoppe-Seylers Z. **101**, 248 (1918). — ³ Warburg: Biochem. Z. **152**, 51 (1924). — ⁴ Warburg, Posener u. Negelein: Biochem. Z. **152**, 309 (1924). — ⁵ Loebel: Biochem. Z. **161**, 219 (1925). — ⁶ Wohlgemuth u. Nakamura: Biochem. Z. **176**, 233 (1926). — ⁷ Takasaka: Biochem. Z. **184**, 390 (1927). — ⁸ Sloutozoff: Ber. 16. Zit. v. Takasaka Arbeiten S. O. — ⁹ Stämmeler u. Sander: Virchows Arch. **256**, 595 (1925). — ¹⁰ Naka: Zbl. Neur. **58**, 751 (1931); **59**, 194 (1931). — ¹¹ Keeser, E. u. J. Keeser: Zbl. Neur. **49**, 216 (1928). — ¹² Molitor u. Pick: Der Schlaf, herausgeg. von Sarason, J. u. F. Lehmanns 1929. — ¹³ Maruyama: Biochem. Z. **253**, 161 u. 172 (1932). — ¹⁴ Dudley u. Marian: Biochemic. J. **17**, 435 (1923). — ¹⁵ Staub: Insulin. 1925. S. 58 und 93.