

Experimentelle Untersuchungen über die Wasseraufnahme von Hirngewebe im Vergleich zu anderen Organgeweben bei extremer intra- und extracellulärer Überwässerung*

M. HOHENEGGER und A. HROMADKA

Infektionsabteilung für Erwachsene (Vorstand: Primarius Dr. E. BÄUERL) und
Bakteriologisch-Pathologisches Institut (Vorstand: Professor Dr. J. ZEITLHOFER)
des Kaiser Franz Joseph-Spitals der Gemeinde Wien

Eingegangen am 27. Januar 1967

Das heute gültige Konzept der Pathophysiologie des Wasserstoffwechsels (MACH, HAMBURGER u. MATHE) unterscheidet streng zwischen Störungen im intra- und extracellulären Flüssigkeitsraum (ICR und ECR). Dehydrierung und Überwässerung können demnach einzeln jeden der beiden Flüssigkeitsräume für sich betreffen, aber auch Kombinationen dieser Einzelstörungen sind möglich.

Für die Frage des Hirnödems ergaben sich dazu in den letzten Jahren spezielle Probleme.

Wichtige Ergebnisse erbrachten vor allem elektronenoptische Befunde, welche beim Hirnödem (hervorgerufen durch Infusion von destilliertem Wasser, durch Traumen, Kälte, venöse Stauung, Hirnmetastasen) keine Erweiterung extracellulärer Gewebsspalten, wohl aber Schwellung der Fortsätze der astrocytären Glia zeigten (LUSE u. HARRIS; SHIMODA, Übersicht bei HOFF u. JELLINGER). Aus diesen Tatsachen könnte geschlossen werden, daß es im Gehirn keinen nennenswerten ECR gäbe und seine Funktion von der Glia übernommen werde.

Andere Untersucher plädieren aber auf das Vorhandensein eines ECR im ZNS, allerdings aufgrund mehr indirekter Methoden. So fanden DAVSON u. SPAZIANI nach Infusion von J^{131} und Sucrose nur eine minimale Diffusion ins Hirngewebe des Kaninchens in vivo, hingegen trat in vitro in Hirnschnitten eine solche rasch ein. Es wird daraus auf die Existenz einer Blut-Hirnschranke und eines ECR im Gehirn von 15% geschlossen.

Fermentuntersuchungen am Triaethyl-tin-Hirnödem ergaben nach KALSBECK u. CUMINGS nur einen Anstieg der extracellulären und nicht der intracellulären Fermente, woraus sich eine extracelluläre Lokalisation dieses Ödems ergeben würde.

* Mit Unterstützung durch den Wissenschaftlichen Fonds der Gemeinde Wien.

Merkwürdigerweise wurde Hirngewebe nach Überwässerung mit Lösungen, die sich vorwiegend im ECR verteilen, nur selten untersucht, während die intracelluläre Ablagerung von Wasser nach Belastung mit Glucoselösung oder reinem Wasser nach dem eingangs erwähnten Konzept des Wasserstoffwechsels eigentlich eine Selbstverständlichkeit darstellt.

Wassergehaltsbestimmungen in Hirngewebe nach extracellulärer Überwässerung haben GERSCHENFELD u. MA sowie FUNK-BRENTANO u. MA durchgeführt. Erstere Autoren fanden keine Zunahme des Gehirnwassergehaltes (merkwürdigerweise auch nicht nach Überwässerung mit reinem Wasser und Pitressin), letztere keine nennenswerte. Beide Autorengruppen haben die Flüssigkeit intraperitoneal oder oral zugeführt, bzw. durch orale Wasser- und i. v. Salzgabe.

Nicht durchgeführt wurde bisher eine *i. v. Dauerinfusion*, welche unserer Meinung nach allein imstande ist, eine einigermaßen gleichmäßige Verteilung der verabreichten Flüssigkeiten herbeizuführen (genauere Diskussion der Probleme der Verteilungsvolumina bei MERTZ).

Den eigenen Untersuchungen liegen folgende Gedanken zugrunde:

1. Es sollen Versuchstiere mit Infusionslösungen überwässert werden, die sich praktisch ausschließlich im ECR verteilen (Physiol. NaCl, Mannitlösung). Durch anschließende Wassergehaltsbestimmung soll festgestellt werden, ob durch diese Infusionen der Gehirnwassergehalt steigt. Wenn es der Fall ist, bedeutet dies, daß unter diesen Versuchsbedingungen ein Raum im Hirngewebe wie ein ECR reagiert. Ob die zugeführte Flüssigkeit nun tatsächlich extracellulär abgelagert wird oder in die Fortsätze der Astrocyten gelangt, kann zunächst ohne elektronenoptische Untersuchungen nicht festgestellt werden.

2. Durch gleichzeitige Wassergehaltsbestimmung in anderen Parenchymorganen, deren extracellulärer Anteil bekannt ist, sind wir in der Lage, den Anstieg des Wassergehaltes dieser Organe mit jenem des Gehirns unter den Bedingungen der extracellulären Überwässerung zu vergleichen. Es ließe sich dann auch eine quantitative Aussage darüber machen, inwieweit Hirngewebe unter den gegebenen Versuchsbedingungen mehr, weniger oder gleichviel Wasser aufnimmt im Vergleich zu anderen Parenchymen (Muskel, Leber usw.).

3. Da die Schlüssigkeit solcher Ergebnisse eine gleichmäßige Verteilung der zugeführten Flüssigkeit im Gesamtorganismus unbedingt voraussetzt, wurde bei unseren Versuchen die fortgesetzte *i. v. Dauerinjektion* angewandt.

Bevor wir auf die Ergebnisse eingehen, schildern wir die Details unserer *Untersuchungsmethodik*:

Als Versuchstiere wurden männliche weiße Mäuse mit einem Körpergewicht von 25–30 g verwendet.

Von diesen wurden Gruppen zu jeweils fünf Tieren gebildet. Zwei Gruppen dienten als Kontrollen. Die anderen Gruppen erhielten eine i. v. Dauerinjektion über 2 Std. (Eine einfache Vorrichtung ermöglichte diese Dauerinjektion in die Schwanzvene gleichzeitig an je fünf Tieren).

Zwei Gruppen erhielten 20% des Körpergewichtes in physiologischer NaCl-Lösung, eine Gruppe erhielt 40% des Körpergewichtes in 3%iger Dextroselösung und zwei Tiere erhielten 20% des Körpergewichtes in 5%iger Mannitlösung. Dabei wurde die Hälfte der verabreichten Dosis in 30 min injiziert, der Rest gleichmäßig innerhalb der folgenden 90 min. Diese Injektionstechnik entspricht annähernd der Clearancetechnik und soll eine möglichst homogene Verteilung der injizierten Flüssigkeit gewährleisten.

Nach Beendigung der Injektion wurden alle Tiere durch Chloroform getötet. Anschließend wurden sofort Gewebsstücke im Gewicht von 200–400 mg aus Muskulatur und Leber entnommen, ferner das Herz, eine Niere und eine Gehirnhälfte. Diese Proben wurden sorgfältig von Blutresten und (besonders der Skelettmuskel) von größeren Bindegewebsanteilen befreit und danach sofort der Wassergehaltsbestimmung zugeführt, welche auf zwei verschiedene Arten vorgenommen wurde:

Die Bestimmung erfolgte bei einer Kontrollgruppe, bei einer mit 3%iger Dextroselösung und bei einer mit physiologischer NaCl-Lösung überwässerten Gruppe nach der *Karl Fischer*-Methode, bei einer weiteren Kontrollgruppe, einer weiteren mit physiologischer NaCl-Lösung und bei den mit 5%iger Mannitlösung überwässerten Tieren wurde nach der *Trocken*-Methode verfahren. [Einzelheiten dieser Verfahren haben wir in einer früheren Arbeit ausführlich geschildert (HOHENEGGER, HROMADKA u. ROSSMANITH)]. Die Überwässerung des ECR wurde — entsprechend seiner im Vergleich zum ICR geringeren Ausdehnung — mit einer kleineren Flüssigkeitsmenge durchgeführt (20% gegenüber 40% des Körpergewichtes). Relativ zur Größe des entsprechenden Flüssigkeitsraumes handelt es sich in beiden Fällen um extreme Flüssigkeitsmengen. Solche Mengen wurden deshalb gewählt, weil nur unter diesen Umständen eine signifikante Wasserzunahme der Gewebe um einige Prozente zu erwarten ist, denn Organgewebe der verwendeten Arten besteht ja ohnehin zum größten Teil aus Wasser. Bei geringerer Überwässerung wären daher statistische Signifikanzen schwer zu erweisen. Tab.1 zeigt Mittelwerte und Sigma der einzelnen Tiergruppen sowie die Einzelwerte der mit Mannitlösung überwässerten Tiere. Tab.2 zeigt die mittleren Wassergehaltszunahmen der Organe, aus Tab.3 ist die statistische Auswertung der Versuche mittels Varianzanalyse ersichtlich.

Als wichtigste *Untersuchungsergebnisse* sind hervorzuheben: In allen Organgeweben und auch im Hirngewebe kommt es sowohl bei extra- als auch bei intracellulärer Überwässerung zu einem signifikanten Anstieg

Tabelle 1. Mittelwerte und Sigma der Organwasserhalte in den einzelnen Gruppen in Prozenten

	Herz	Muskel	Leber	Niere	Gehirn
Kontrollen	68,7 ± 2,8	67,2 ± 1,0	65,0 ± 2,7	70,6 ± 2,8	70,5 ± 2,2
3% Dextrose	76,2 ± 2,7	74,6 ± 3,3	68,8 ± 3,6	72,4 ± 6,1	75,8 ± 1,9
Phys. NaCl	70,8 ± 2,1	68,8 ± 1,8	69,9 ± 5,6	75,3 ± 9,8	72,7 ± 1,0
Kontrollen	75,0 ± 0,5	74,0 ± 0,6	69,6 ± 0,9	75,8 ± 0,5	75,4 ± 0,5
Phys. NaCl	76,9 ± 1,6	75,6 ± 2,4	72,7 ± 3,2	80,3 ± 0,8	77,2 ± 0,7
Mannitlösung ¹	77,2 76,0	78,9 76,4	79,0 76,5	81,4 83,2	77,5 76,8

¹ Einzelwerte zweier Versuchstiere.

Tabelle 2. Mittlere Wassergehaltszunahmen der Organe im Vergleich zu den Kontrollen in Prozenten

	Herz	Muskel	Leber	Niere	Gehirn
3% Dextrose	7,5	7,4	3,8	1,8	5,3
	2,1	1,6	4,9	4,7	2,2
Phys. NaCl	1,9	1,6	3,1	4,5	1,8

Karl Fischer

Trocknung

Tabelle 3. *Varianzanalyse*

Streuungs- ursache	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>DQ</i>	<i>F</i>	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>DQ</i>	<i>F</i>	<i>SQ</i>	<i>FG</i>	<i>DQ</i>	<i>F</i>
<i>B</i>	87,72	1	87,72	34,0	119,59	1	119,59	29,48	360,71	1	360,71	32,2
<i>O</i>	285,77	4	71,44	60,5	287,86	4	71,96	11,84	240,41	4	60,10	6,0
Inn.	72,54	40	1,81		284,02	40	4,09		402,02	40	10,05	
$B \times O$	10,31	4	2,58	2,18	16,38	4	6,10	0,66	44,92	4	11,20	0,11
Tot.	456,34	49			707,85	49			1048,06	49		
Art der Behandlung	Physiologische NaCl-Lösung											
Methode der H ₂ O-Bestimmung	Trocknung											
	Karl Fischer											
	Dextrose 3% ₀											

B Streuungsursache: aufgrund verschiedener Behandlung (Phys. NaCl, Dextrose 3%₀ — Kontrollen); *O* Streuungsursache: zwischen den verschiedenen Organen; Inn. Streuung innerhalb der einzelnen Gruppen (Tab. 1); $B \times O$ Streuungsursache: aufgrund verschiedener Wechselwirkung zwischen Behandlung und Organen; Tot. Summe aller Streuungsursachen; *FG* Freiheitsgrade; *SQ* Quadratsumme; *DQ* Durchschnittsquadrat (SQ/FG).

Kritische <i>F</i> Werte		
	<i>p</i> 0,05	<i>p</i> 0,01
$F_B = DQ_B/D_{B \times O}$	7,71	21,2
$F_O = DQ_O/DQ_{Inn}$	2,61	3,83
$F_{B \times O} = DQ_{B \times O}/DQ_{Inn}$	2,61	3,83

des Wassergehaltes. *Keine* Signifikanz hingegen konnte errechnet werden für das *verschiedene Ausmaß* der Wassergehaltszunahme der einzelnen Organgewebe ($B \cdot O$ in der Varianzanalyse). Hirngewebe unterscheidet sich demnach bei extra- und intracellulärer Überwässerung hinsichtlich der Wasseraufnahme *nicht* signifikant von den anderen Parenchymen.

Betrachten wir noch die Zahlen etwas genauer, die sich bei Überwässerung mit physiologischer NaCl-Lösung ergeben:

Zunächst besteht bei allen Organen eine weitgehende Übereinstimmung der nach zwei verschiedenen Methoden (Karl Fischer und Trocknung) bestimmten Werte. Danach ist die Wasserzunahme im Hirngewebe mit jener von Herz- und Skelettmuskel praktisch identisch, jedoch etwas (wenn auch nicht statistisch signifikant) geringer als in Leber und Niere.

Andererseits ist auch bei Überwässerung des IZR mit 3%iger Dextroselösung die Wassergehaltszunahme von Hirngewebe sehr ähnlich derjenigen von Herz- und Muskelgewebe, hingegen im Vergleich mit Leber und Niere etwas (wenn auch wieder statistisch nicht signifikant) erhöht. Dies ist leicht verständlich, da ja Leber- und Nierengewebe einen weit größeren interstitiellen Anteil besitzt als Herz- und Skelettmuskulatur. Dadurch nimmt bei vorwiegend intracellulärer Überwässerung der Wassergehalt parenchymreicher Organe wie Herz und Muskel etwas stärker zu.

Damit kann die eingangs aufgeworfene Frage beantwortet werden: Bei Überwässerung mit Flüssigkeiten, die sich extracellulär verteilen, verhält sich Hirngewebe hinsichtlich seiner Wasseraufnahme identisch mit dem interstitiumarmen Herz- und Skelettmuskel, es zeigt aber auch im Vergleich mit den interstitiumreichen Organen Leber und Niere keinen statisch signifikanten Unterschied. (Nach DULCE u. GÜNTHER beträgt der interstitielle Anteil im Muskel der Ratte rund 9%, jener der Leber rund 19%).

Grob ausgedrückt kann daher nach den vorliegenden Untersuchungen angenommen werden, daß bei extremer extracellulärer Überwässerung knapp 10% des Gehirngewebes als extracellulärer Raum reagieren. Ob die so aufgenommene Flüssigkeit nun tatsächlich extracellulär abgelagert oder von den Gliafortsätzen aufgenommen wird, werden weitere morphologische Untersuchungen zeigen müssen.

Abschließend sei noch erwähnt, daß die nach *Karl Fischer* ermittelten Wassergehalte stets um einige Prozente geringer sind als die nach der Trockenmethode bestimmten. Das erklärt sich aus der Methodik und wurde bereits andernorts ausführlich behandelt (HOHENEGGER, HROMADKA u. ROSSMANITH).

Die durch Überwässerung mit Mannitlösung bewirkten Wassergehalte liegen im Rahmen derjenigen, welche durch Injektion physiologischer NaCl-Lösung erzielt wurden.

Zusammenfassung

Es wurde der Wassergehalt von Hirngewebe und anderen Parenchymorganen der Maus (Herz- und Skelettmuskel, Leber, Niere) nach intra- und extracellulärer Überwässerung untersucht. Dabei trat in allen Organen ein signifikanter Anstieg des Wassergehaltes ein, welcher im Mittel bei intracellulärer Überwässerung zwischen 1,8 und 7,5% lag, während er bei extracellulärer Überwässerung 1,6 bis 4,9% betrug. Die Wassergehaltzunahme von Hirngewebe ist bei extracellulärer Überwässerung praktisch identisch mit jener von Herz- und Skelettmuskulatur. Unter den Versuchsbedingungen reagiert demnach ein Gewebsanteil des Gehirns als extracellulärer Raum, dessen Größe dem bekannten Extracellulärraum des Muskelgewebes weitgehend entsprechen dürfte. Ob die bei extracellulärer Überwässerung abgelagerte Flüssigkeit tatsächlich extracellulär oder aber in den Fortsätzen der Astrocyten gelagert ist, muß durch weitere morphologische Untersuchungen geklärt werden.

Literatur

- DAVSON, H., and E. SPAZIANI: The blood-brain barrier and the extracellular space of brain. *J. Physiol. (Lond.)* **149**, 135 (1959).
- DULCE, H. J., u. TH. GÜNTHER: Steuerung des cellulären Elektrolyt- und Wassergehaltes durch Hormone. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmac.* **238**, 368 (1960).
- FUNCK-BRENTANO, J. L., I. LOSSKY-NEKHOROCHEFF et J. ALTMAN: Etude experimentale des manifestations cérébrales de l'intoxication par l'eau. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **12**, 185 (1960).
- GERSCHEFELD, H. M., F. WALD, J. A. ZADUNAIKY, and E. D. P. DE ROBERTIS: Function of astroglia in the water-ion metabolism of the central nervous system. *Neurology (Minneapolis)* **9**, 412 (1959).
- HAMBURGER, J., et G. MATHÉ: Physiologie normale et pathologique du métabolisme de l'eau. Paris: E. M. F. 1952.
- HOFF, H., u. K. JELLINGER: Das Hirnödem. *Wien. Z. Nervenheilk.* **19**, 305 (1962).
- HOHENEGGER, M., A. HROMADKA u. K. ROSSMANN: Bestimmung des Wassergehaltes im Organewebe mit der Karl Fischer-Methode. *Z. ges. exp. Med. (im Druck)*.
- KALSBECK, J. E., and J. N. CUMINGS: Experimental edema in the rat and cat brain. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **22**, 237 (1963).
- LUSE, S. A., and B. HARRIS: Electron microscopy of the brain in experimental edema. *J. Neurosurg.* **17**, 439 (1960).
- — Brain ultrastructure in hydration and dehydration. *Arch. ges. Psychiat. Neurol.* **4**, 139 (1961).
- MACH, R. S.: Les troubles du métabolisme du sel et du l'eau. Paris: Masson 1947.
- MERTZ, D. P.: Die extracelluläre Flüssigkeit. Stuttgart: G. Thieme 1962.
- SHIMODA, A.: Elektronenoptische Untersuchungen über den perivaskulären Aufbau des Gehirnes unter Berücksichtigung der Veränderungen bei Hirnödem und Hirnschwellung. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **183**, 78 (1961).

Dr. M. HOHENEGGER, Dr. A. HROMADKA
 Infektionsabteilung für Erwachsene, Bakteriologisch-
 Pathologisches Institut Kaiser Franz Joseph-Spital
 A-1100 Wien, Kundratstraße, 3 Österreich