

124. Fermente im Gehirn geistig normaler Menschen.
(Cholin-esterase, Mono- und Diamin-oxydase, Cholin-oxydase)

von Hans Birkhäuser.

(2. VIII. 40.)

Seit *Loewi*¹⁾ ist bekannt, dass Acetylcholin (A.Ch.) im vegetativen Nervensystem eine wichtige Rolle bei der Übertragung der Erregung spielt. Nach den Arbeiten von *Marnay*, *Minz*, *Nachmansohn*²⁾ und *Nachmansohn*³⁻⁹⁾ spielt es auch im zentralen Nervensystem die Rolle einer Überträgersubstanz. Cholin-esterase (Ch.E.) hydrolysiert das mit der Erregung anfallende A.Ch., behebt damit den Erregungszustand und macht die nervöse Substanz bereit zum Empfang des nächsten Impulses. Es darf vermutet werden, dass hohe Esterasekonzentration ein Anzeichen für lebhaftere nervöse Tätigkeit in dem betreffenden Gewebe sei. Gewisse Störungen der Motorik, wie sie z. B. bei der Schizophrenie beobachtet werden, könnten auf Fehler im Fermenthaushalt zurückzuführen sein. Mangel an Ch.E. würde A.Ch. sich anhäufen lassen, wodurch es zu einer Dauererregung in dem entsprechenden Teil des Zentralnervensystems käme.

Was die Verteilung der Mono- und Diamin-oxydase sowie der Cholin-oxydase im menschlichen Gehirn anbelangt, so ist darüber bisher nichts bekannt. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich deshalb lediglich damit, ihre Verteilung darzulegen.

Wenn pathologische Gehirne auf ihren Fermentgehalt untersucht werden sollen, so muss vorerst das Vorkommen dieser Substanzen im normalen Organ bekannt sein. Aus den bisherigen Veröffentlichungen sind wohl Normalwerte der Ch.E. zu ersehen; es sind jedoch keine Angaben aufzufinden über die Zahl der Einzeluntersuchungen, aus welchen sich diese Werte zusammensetzen, ebensowenig über die physiologische Schwankungsbreite der Fermentkonzentration, über die Beziehungen zum Lebensalter, zur Lagerungsdauer des Gehirns, zum Geschlecht, zu pathologisch-anatomischen Veränderungen.

Es soll hier versucht werden, diese Fragen zu beantworten.

I. Cholin-esterase.

a) Methodik. Manometrische Bestimmung der Kohlendioxyd-Produktion nach *Ammon*¹⁰⁾. Gesamtflüssigkeitsvolumen 2 cm³. Im Hauptgefäß 1,5 cm³ einer Lösung

¹⁾ *Loewi*, Arch. ges. Physiol. **189**, 239 (1921).

²⁾ *Marnay*, *Minz*, *Nachmansohn*, C. r. Soc. Biol. **125**, 43 (1937).

³⁻⁹⁾ *Nachmansohn*, C. r. Soc. Biol. **126**, 783 (1937); **127**, 670, 894 (1938); **128**, 24, 516 (1938); **129**, 830 (1938); Presse Méd. **48**, 942 (1938).

¹⁰⁾ *Ammon*, Arch. ges. Physiol. **233**, 486 (1934).

von 0,1 g A.Ch.-Chlorid *Roche* in 25 cm³ *Ringer*-30. (*Ringer*-30: NaCl 9 g, KCl 11,5 g, CaCl₂ 12,2 g, NaHCO₃ 13 g im Liter. Davon 96 cm³ NaCl-, 2 cm³ KCl-, 2 cm³ CaCl₂-, 20 cm³ NaHCO₃-Lösung gemischt. p_H = 7,8.) Anhang: 0,5 cm³ Extrakt. Zukippen nach Temperatenausgleich (38⁰). Rückkippen zur Ausspülung des Anhangs.

Extraktkontrolle: 0,5 cm³ Extrakt + 1,5 cm³ *Ringer*. Spezifische Physostigminhemmung: 0,2 cm³ einer 0,02-proz. Physostigmin-sulfatlösung + 1,3 cm³ A.Ch.-Lösung + 0,5 cm³ Extrakt. Die Eigenhydrolyse des A.Ch. ergibt Werte von durchschnittlich 8 mm³ CO₂ in 60 Min. pro 6 mg A.Ch.

Physostigminlösung ist schlecht haltbar und deshalb mindestens jeden Monat frisch zu bereiten.

Gas: 95% N₂ + 5% CO₂. Durchströmungsdauer 3 Minuten.

Im Ansatz sind 6 mg A.Ch., die rund 660 mm³ CO₂ freizusetzen vermögen, eine Menge, die für unsere Verhältnisse genügt.

b) Extraktgewinnung. Da es uns vorwiegend auf Vergleichswerte ankommt und weniger auf vollständige Ausbeute, glaubten wir anfänglich, mit folgendem Verfahren auszukommen: Zerreiben der Hirnteile mit Quarzsand unter Zusatz von 6 Teilen *Ringer*-30 zu 1 Teil Hirn (1 cm³ *Ringer* = 1 g gesetzt). Zentrifugieren und Verwendung der überstehenden Lösung als Extrakt. Nach etwa 10 Versuchen mit gut vergleichbaren Werten traten jedoch plötzlich solche auf, die beträchtlich vom Durchschnitt abwichen. Daraufhin wurde auch die Aktivität des Bodensatzes untersucht und folgendes festgestellt:

Extrakt: Gemisch aus Thalamus und Nucl. caudatus 1:1, Verdünnung 1:6. Zubereitung wie oben angegeben in 3 gleichen Portionen. Portion 1 wird zentrifugiert und davon überstehende Lösung und Bodensatz untersucht. (Extr. 1 und Niederschlag 1). Mit der 2. Portion wird gleich verfahren, die überstehende Lösung aber abgossen. Zugabe des gleichen Volumens *Ringer*, aufrühren und nochmals zentrifugieren. (Extr. 2 und Niederschlag 2). In gleicher Weise wird ein drittes Mal mit Portion 3 verfahren.

Extr. 1	N'schl. 1	Extr. 2	N'schl. 2	Extr. 3	N'schl. 3	
76	651	34	496	13	572	mm ³ CO ₂ nach 30 Min.
46	304	27	378	5	245	

Der Niederschlag ist somit rund 10mal aktiver als die überstehende Lösung. Die Aktivitätsschwankung der durch blosses Zentrifugieren gewonnenen Extrakte lässt sich demnach aus der gelegentlichen Anwesenheit von Gewebsteilchen in der überstehenden Lösung erklären. (Die starken Differenzen der Werte des Niederschlags in obiger Tabelle beruhen auf der schwierigen Übertragung der dichten Suspension in die Versuchsgefäße.)

Endgültiges Verfahren: Zerkleinern des Gewebes zu reiskorngrossen Stücken. Abspülen auf einem Drahtnetz mit *Ringer*-30. Wasser wird vermieden, da es nach *Mahal*¹⁾ die Aktivität des Ferments beeinträchtigen soll. Zerreiben von 1 Teil Gewebe mit 40 Teilen *Ringer*. Mindestens 5 Minuten stehen lassen. Übertragen des Gemisches auf eine Nutsche, auf welcher ein Nesselstuch (Mousseline) mit 16 Ketten- und 14 Schussfäden auf den ½ cm² als Filter dient. Filtration an der Wasserstrahlpumpe. — Auf diese Weise wird eine leicht trübe, homogene Suspension erhalten, die ein vergleichendes Arbeiten erlaubt.

c) Fehlerbreite der Methodik. Soweit es die Zahl der zur Verfügung stehenden Gefässe erlaubt, werden die Bestimmungen

¹⁾ *Mahal*, Indian J. Med. Res. **25**, 703 (1938), zit. nach Ber. ges. Physiol. **106**, 292 (1938).

Tabelle 1.

Haltbarkeit der Cholin-esterase.

Versuche 1—2 Gemisch aus Thalamus und Nucl. caudatus 1:1, Versuche 3—5 Nucl. caudatus allein. Organe vom Rind. Extrakt 1:40, zubereitet nach obigen Angaben. Sofortige Verarbeitung des noch warmen Gehirns. Versuchsbeginn spätestens 4 Stunden post mortem. Zahlen: mm³ CO₂ nach 60 Min. aus 0,0125 g Gewebe.

Versuch Nr.	1		2		3		4		5						
	Gefäss Nr.	Ex-trakt-kon-trolle													
Sofort nach Extraktzubereitung	248	254	1	271	277	4	474	486	-1	430	442	0	484	477	-1
Extrakt 2 Tage im Eisschrank	261	264	6	250	248	-1									
2. Hirnhälfte 1 Tag im Eisschrank							450	459	-2	444	465	0	505	493	0
2. Hirnhälfte 2 Tage im Eisschrank	262	254	4	248	258	-4									
Extrakt 4 Tage im Eisschrank	254		-1	252	260	-5									
Extrakt des 2 Tage aufbewahrten Hirns 2 Tage im Eisschrank	259	269	1												
Extrakt 6 Tage im Eisschrank	263		1												

doppelt ausgeführt. In 58 Doppelbestimmungen unterscheiden sich die Einzelwerte nie um mehr als 6%, meistens um 2—3%. Von ihnen werden die Mittelwerte in den Tabellen aufgeführt, während Einzelbestimmungen als solche bezeichnet sind.

d) Haltbarkeit des Ferments. Wie aus der obigen Tabelle 1 ersichtlich ist, werden nach verschiedener Lagerungsdauer sowohl des unbearbeiteten Gehirns (in diesen Versuchen vom Rind) als auch des Extrakts Werte erhalten, deren Schwankungen innerhalb der Fehlerbreite der Methodik bleiben. Es bestätigt sich also die gute Haltbarkeit der Ch.E., auf welche schon *Ammon*¹⁾, *Mahal*²⁾, *Nachmansohn*³⁾ hingewiesen haben.

e) Blutgehalt des Gehirns und Fermentaktivität. Es ist denkbar, dass bei verschiedenem Blutgehalt des Gehirns Schwankungen des Esterasegehalts auftreten, die allein durch die verschiedene Blutmenge bedingt sind. In einigen orientierenden Versuchen wurde im Serum ein Ch.E.-Wert von rund 1100 mm³ CO₂/cm³/30 Min. gefunden (Quotient nach *Nachmansohn* (siehe unten) rund 2 gegenüber 20—30 in gewissen Hirnteilen). Im Hämolysat der Erythrocyten ist der Ch.E.-Gehalt gleich gross wie in Serum. (Blut mit Liquoid flüssig gehalten. Erythrocyten mit *Ringer* gewaschen, nachher mit Aqua dest. auf das ursprüngliche Blutvolumen aufgefüllt und damit hämolysiert.)

Tabelle 2.

Unterschied in der Durchblutung.

Organ: Thalamus. Werte: mm³ CO₂ nach 60 Min. aus 0,0125 g Gewebe ohne Abzug des CO₂-Wertes durch Spontanhydrolyse des A.Ch.

Versuch Nr.			Versuch Nr.		
153	45	Allgemeine Stauung.	200	46	Starke Anämie.
162	52	Hirn stark durchblutet.	220	39	Schizophrenie.
168	42	Schwerste Stauung und Polycythämie.	245	31	Schwere Anämie.
189	50	Schwere chronische Stauung.	273	44	Allgemeine Anämie.
199	38	Allgemeine Stauung.	277	34	Allgemeine Anämie.
208	37	Schwerste allgemeine Stauung.	280	48	Perniciosaaartige Anämie.
210	36	Hirn blutreich.	Durchschnitt 40,3 ± 5,7.		
219	43	Schwere allg. Stauung.			
Durchschnitt 42,8 ± 4,6.					

¹⁾ *Ammon*, Arch. ges. Physiol. **233**, 486 (1934).

²⁾ *Mahal*, Indian J. Med. Res. **25**, 703 (1938), zit. nach Ber. ges. Physiol. **106**, 292 (1938).

³⁾ *Nachmansohn*, C. r. Soc. Biol. **128**, 516 (1938).

Obwohl das untersuchte Gewebe nur zu einem Bruchteil aus Blutgefässen besteht und damit von vornherein wenig des ohnehin schwach fermenthaltigen Blutes enthalten kann, wurde untersucht, ob sich ein merklicher Unterschied feststellen lasse zwischen dem Ch.E.-Gehalt makroskopisch blutreicher und blutarmer Gehirne.

Der Durchschnittswert aus den 8 blutreichen Gehirnen ist um ein geringes höher als derjenige aus den 6 blutarmen. Die Differenz der Mittelwerte liegt aber fast gänzlich innerhalb der Fehlerbreite. Es darf deshalb behauptet werden, der Gehalt des Thalamus opticus an Ch.E. werde auch bei extrem gegensätzlichen Blutungsverhältnissen nicht wesentlich verändert.

f) Stickstoffgehalt des Gehirns und Fermentaktivität. Ausser durch Schwankungen im Blutgehalt könnte die Ch.E.-Menge durch verschiedenen Wassergehalt des Gewebes beeinflusst werden. Als Mass für die Feuchtigkeit wurde die Eiweiss- bzw. Stickstoff-Menge in 1 g frischen Gewebes (Thalamus) bestimmt. (Methode: Mikro-Kjeldahl). Es ergaben sich dabei die folgenden Verhältnisse:

Tabelle 3.

Beziehung zwischen N-Gehalt und Fermentaktivität.

Versuch Nr.	mm ³ CO ₂ aus 0,0125 Ge- webe in 60 Min. ¹⁾	mg N im g Gewebe (Thalamus)	CO ₂ pro 1 mg N
210	36	19,9	144 Erwachsener
217	34	18,4	147 „
219	43	19,6	175 „
220	39	19,9	157 „
224	41	19,6	167 „
226	38	21,1	144 „
230	29	19,5	118 „
232	36	20,0	144 „
237	44	19,2	183 „
240	31	20,0	124 „
243	40	21,1	151 „
249	39	20,8	148 „
250	46	17,6	209 (13 Monate)
254	36	19,9	145 Erwachsener
259	75	12	500 (Fetus)
275	64	12	426 (Fetus)
283	95	13,5	558 (3 Wochen)
284	57	13,5	335 (3 Wochen)
Maximale Differenz (13 Erwachsene allein):			
	34%	13%	36%

¹⁾ Ohne Abzug des CO₂-Wertes durch Spontanhydrolyse des A.Ch.

Der Stickstoff-Gehalt ist auffallend konstant. Er wechselt mit dem Lebensalter. Am niedrigsten beim Fetus, hat er nach 13 Monaten die Normalzahl nahezu erreicht.

Nimmt man nicht das Gewicht des Gewebes, sondern seinen Stickstoff-Gehalt als Mass, so gelangt man zu einem ähnlichen Ergebnis. Eine Ausnahme bildet der Fetus, der eine sehr viel grössere Fermentaktivität pro g N aufweist als pro g Gesamtgewicht. Die Kohlendioxyd-Produktion hängt somit nicht vom Trockensubstanzgehalt des Gewebes ab, als dessen Masstab der Stickstoff-Gehalt gewählt worden ist.

g) Fermentaktivität und Verdünnungsgrad. In Bestätigung der Ergebnisse von *Glick*¹⁾ lässt sich nachweisen, dass sich der Verdünnungsgrad mit praktisch genügender Genauigkeit innerhalb weiter Grenzen umgekehrt proportional zur Aktivität verhält.

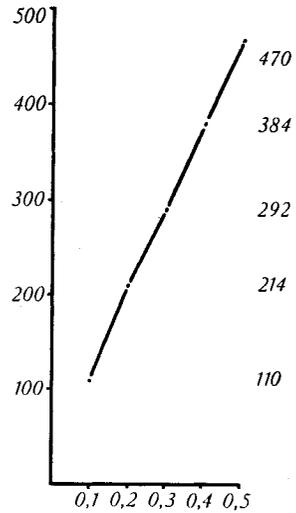


Fig. 1.

Abzisse: cm³ eines Extrakts aus Nucl. caudat. 1:5.
Ordinate: mm³ CO₂ in 60 Min.

h) Cholin-esterase im Gehirn.

Aus dieser Zusammenstellung ist folgendes ersichtlich:

1. Beim Erwachsenen sind die Mittelwerte des *Nachmansohn*-schen Quotienten nach Abzug des Wertes der CO₂-Produktion durch Spontanhydrolyse des A.Ch. (siehe Tabelle 4) für

Thalamus . . .	2,0	mittlerer Fehler des Mittelwertes ²⁾ ± 0,1	(23 Fälle)
Nucl. caudatus .	28,5	„ „ „	1,2 (22 „)
Putamen . . .	37,5	„ „ „	1,05 (18 „)
Pallidum . . .	9,3	„ „ „	0,4 (15 „)
Rinde (Gyr. centr. ant. sin.)	1,0	„ „ „	0,07 (23 „)

Die Extremwerte sind für

Thalamus	0,8 und 4,0
Nucl. caudatus	15,4 „ 40,3
Putamen	29,6 „ 46,8
Pallidum	6,5 „ 12,7
Rinde	0,4 „ 3,2

¹⁾ *Glick*, Biochem. J. **31**, 521 (1937).

²⁾ Als mittlerer Fehler des Mittelwertes wurde $\epsilon = \sqrt{\frac{\pi}{2n}}$ berechnet. Er gibt an, innerhalb welcher Grenzen der gefundene vom wahren Mittelwert mit einer Wahrscheinlichkeit von 2:1 abweicht.

Tabelle 4.

Cholin-esterase.

Die Zahlen in der ersten Kolonne (mm³) bedeuten mm³ CO₂, freigesetzt durch 0,0125 g Gewebe in 60 Minuten. Die Zahlen in der zweiten Kolonne (F) entsprechen dem *Nachmansohn'schen* Quotienten: mg Acetyl-cholin, hydrolysiert durch 100 mg Gewebe in 60 Minuten. Von sämtlichen Werten sind die durchschnittlichen 8 mm³ CO₂ abgezogen, die durch Spontanhydrolyse von 6 mg A.Ch. frei werden.

Versuch Nr.	Thalamus		Nucl. caud.		Putamen		Pallidum		Rinde*)		Weisse Subst.		Alter	Ge- schlecht	Stunden post mort.
	mm ³	F	mm ³	F	mm ³	F	mm ³	F	mm ³	F	mm ³	F			
152	36	2,6	(279)	19,8					(10)	0,7			68	m	12,55
153	27	1,9	(392)	27,9					17	1,2			64	m	15,55
156	12	0,8	(288)	20,5					45	3,2			77	w	13,15
162	42	3,0	(557)	39,6					6	0,4	4	0,3	81	m	12,45
163	31	2,2	499	35,5					26	1,8	6	0,4	67	w	11,25
166	33	2,4				586	41,7		(9)	0,6			81	w	27,15
168	34	2,4	(217)	15,4		504	35,9		18	1,3			51	m	7,20
189	42	3,0	566	40,3		658	46,8		20	1,4			66	m	12,25
193	36	2,6	(392)	27,9	115	558	39,8	8,2	12	0,8			53	m	27,45
198	24	1,7	434	30,9	112	498	35,5	8,0	12	0,8			62	w	15,25
199	30	2,1	403	28,7	116	442	31,4	8,3	10	0,7			63	m	16,20
204	56	4,0	468	33,3	120	436	31,0	8,5	10	0,7			86	w	11,30
206	33	2,4	446	31,8	119	607	43,2	8,4	11	0,8			69	m	11,25
208	31	2,2	328	23,4	133	533	38,0	9,5	12	0,8			72	w	9,20
210	32	2,3	449	31,9	168	543	38,7	11,9	12	0,8			36	m	13,30
217	31	2,2	378	26,9	135	415	29,6	9,6	13	0,9			52	w	46,10
219	31	2,2	358	25,5	147	495	35,2	10,5	13	0,9			44	w	13,05
220	31	2,2	422	30,8	179	573	40,8	12,7	10	0,7			21	m	17,30
240	23	1,6	364	25,9	123	574	40,9	8,8	13	0,9			31	w	27,50
249	31	2,2	424	30,2	132	554	39,4	9,4	16	1,1			42	m	11,25
250	38	2,7	562	40,0									13 Monate	m	23,30
254	28	2,0	385	27,4	143	578	41,2	10,2	12	0,8			64	w	24,35
259	67	4,8	73	5,2									Fetus	m	12,30
263	48	3,4	345	24,5	432	30,7	30,7	6,5	11	0,8			80	w	20,15
273	36	2,6	445	31,7	498	35,5	498	10,1	11	0,8			38	m	19,15
275	56	4,0	99	7,0									Fetus	m	3,15
283	87	6,2	153	10,9					18	1,3			3 Wochen	m	2,15
284	49	3,5	212	15,1					34	2,4			3 Wochen	w	2,15

In Klammer: Doppelbestimmungen mit Differenz der Einzelwerte zwischen 10 und 20%.

*) Gyr. central. ant. sin.

Pathologisch-anatomische Angaben zu Tabelle 4.

Versuch Nr.	
152	Lymphat. Leukämie. Empyem. Mässige Hirnquellung.
153	Hypertonie. Herzdilatation. Schwere allgemeine Stauung. Hirn blutreich.
156	Subakute Miliartuberkulose. Allgemeine Abmagerung. Hydroceph. ext. und int.
162	Harnblasenperforation bei Blasenstein. Peritonitis acuta. Prostatahypertrophie.
163	Frische doppelseitige Bronchopneumonie. Allgem. Oedeme. Hydroceph. int. Hirn 830 g.
166	Karzinom des Unterkiefers. Allgemeine Senilität.
168	Herzhypertrophie mit schwerster Dekompensation und chronischer Stauung. Polyglobulie.
189	Myodegeneratio cordis mit allgemein schwerer Stauung.
193	Stenosierendes Oesophaguskarzinom. Metastasen der regionären Lymphdrüsen.
198	Scirrhus ventriculi. Peritonealcarcinose. Endocarditis aortae mit allgemein chronischer Stauung. Oedeme.
199	Mitralinsuffizienz. Cor bovinum. Allgemeine schwere Stauung. Leichtes Hirnoedem.
204	Mitralinsuffizienz. Chronische Stauung. Leichter Etat criblé der Stammkerne.
206	Konfluierende Bronchopneumonie. Mässige chronische Stauung.
208	Mitralinsuffizienz, schwerste allgemeine Stauung, Hirnoedem.
210	Abszess der Zunge mit Mundboden- und Halsphlegmone. Parotitis duplex. Hirn blutreich.
217	Hypertonie. Herzhypertrophie. Mässige allgemeine Stauung. Encephalomalacische Herde der Stammkerne.
219	Mitralinsuffizienz und Stenose mit schwerer allgemeiner Stauung.
220	Suicid (Schuss durch Thorax). Anaemie.
240	Diffuse, nicht mehr frische Peritonitis nach Adnexitis perforativa.
249	Septische Allgemeininfektion bei Phlegmone des Mundbodens. Leichtes Hirnoedem.
250	Coliopsis. Bronchopneumonie. Rachitis. Haemorrhagische Diathese. Starke Hyperämie des Gehirns.
254	Lebercirrhose bei Alcoholismus chron. Ascites. Stauungslunge. Gehirn 1030 g.
259	Intrauteriner Fruchttod bei Eklampsie der Mutter. Akute Cyanose der innern Organe mit Stauungsblutungen der weichen Hirnhäute.
263	Hypertonie. Allgemeine chronische Stauung. Etat criblé der Stammganglien.
273	Larynxkarzinom nach intensiver Bestrahlung. Allgemeine Anaemie und Kachexie.
275	Totgeburt. Wirbelsäulenfraktur. Feine Blutungen der weichen Hirnhäute.
283	Frühgeburt. Starke allgemeine Anaemie. Pneumonie.
284	Abszedierende Pneumonie.

Nach den Protokollen der pathologisch-anatomischen Anstalt der Universität Basel, für deren Überlassung dem Vorsteher Herrn Prof. Dr. A. Werthemann der beste Dank ausgesprochen sei.

Demnach schwankt der Ch.E.-Gehalt am stärksten im Thalamus und am wenigstens im Putamen. Die verhältnismässige Konstanz im Putamen weist darauf hin, dass Fehler bei der Präparation keine grosse Rolle beim Zustandekommen dieser Differenzen spielen können, da das Herausschneiden des kleinen Putamens mehr Anlass zu Ungenauigkeit gibt als das Herauslösen des grossen Thalamus oder des ausgedehnten und durch seine Färbung scharf abgegrenzten Nucl. caudatus.

*Nachmansohn*¹⁾ gibt folgende Werte an:

Rinde (parietal) 1,3, Nucl. caudatus 30,0, Putamen 46,0, Thalamus 2,7. Das Pallidum scheint nicht untersucht worden zu sein.

Pighini's²⁾ Zahlen sind die folgenden: Rinde (welcher Teil?) 2,4, Nucl. caudatus 20,5, Putamen 22,5.

Bei *Nachmansohn* ist keine Angabe auffindbar, auf wieviele Einzeluntersuchungen sich seine Werte stützen, und auch bei *Pighini* waren uns nur 3 Untersuchungen des Nucl. caudatus zugänglich, 2 des Pallidums (die mit durchschnittlich 7,2 unter den unsrigen liegen), 2 des Thalamus und 4 der Rinde.

Die Quotienten von *Nachmansohn* sind den unsrigen sehr ähnlich für Rinde, Nucl. caudatus, Thalamus, während er für das Putamen eine höhere Zahl angibt. Worauf dieser letzte Unterschied beruht, kann nicht untersucht werden, da keine Angaben über Herkunft und Beschaffenheit des *Nachmansohn*'schen Materials auffindbar sind. Ähnliches gilt für *Pighini*, wobei ausserdem zu beachten ist, dass sich dieser Autor einer von der unsrigen verschiedenen titrimetrischen Methode in Anlehnung an *Stedman* und *White* bedient. Andere Untersuchungen der Ch.E. im menschlichen Gehirn sind uns nicht bekannt.

2. Unter den Erwachsenen fällt der Ch.E.-Gehalt im Thalamus von 4 Personen von über 80 Jahren auf. Der A.Ch.-Quotient ist hier am höchsten: durchschnittlich 4,7 gegenüber dem Mittelwert von 2,8 aus 6 Bestimmungen bei Personen unter 45 Jahren.

Obwohl bei diesen 4 Achtzigjährigen absolut und durchschnittlich die höchsten Werte vorkommen, ist die Zahl der Bestimmungen zu klein, als dass schon bindende Schlüsse gezogen werden dürften.

3. Die Abweichungen im Ch.E.-Gehalt des Nucl. caudatus von 5 Kleinkindern überschreiten dagegen die Fehlergrenze der Methodik und die physiologische Schwankungsbreite in so ausgesprochenem Mass, dass sie trotz der bloss 5 Bestimmungen als kennzeichnend angesehen werden dürfen.

A.Ch.-Quotient Thalamus $4,8 \pm 0,5$ } im Durchschn., gegenüber { $2,9 \pm 0,1$ } beim
,, N. caudat. $16,8 \pm 5,4$ } { $29,1 \pm 1,8$ } Erwachsenen

¹⁾ *Nachmansohn*, C. r. Soc. Biol. **128**, 24 (1938).

²⁾ *Pighini*, Biochim. e Ter. sper. **25**, 347 (1938).

Der Mittelwert für Nucl. caudatus wäre noch niedriger, wenn der schon hohe Quotient des Kindes von 13 Monaten weggelassen worden wäre. Die Verteilung des Ferments beim Kind ist ausgeglichener als beim Erwachsenen: im Thalamus ist der Gehalt hoch, wie er auch nach unseren 2 Werten in der Rinde hoch zu sein scheint, während er im Nucl. caudatus niedrig ist.

Ontogenetisch vergleichende Untersuchungen sind uns nur von *Nachmansohn*¹⁾ und *Zeller et al.*²⁾ bekannt. Ersterer findet im Gehirn von Kücken einige Tage vor und nach dem Ausschlüpfen ein Ansteigen des Fermentgehalts. Die letzteren stellen wie *Nachmansohn* eine Tendenz zur Abnahme der Fermentwerte mit zunehmendem Alter fest. Ihr Zahlenmaterial ist allerdings klein.

4. Geschlecht und Ch.E.-Gehalt. Es werden die Mittelwerte der Ch.E.-Quotienten angeführt mit ihrem mittleren Fehler und die Anzahl der Einzelwerte, auf welche sich die Mittelwerte stützen (in Klammer). Der CO₂-Wert durch Spontanhydrolyse des A.Ch. ist bei diesen und den obigen Vergleichswerten nicht abgezogen.

Thalamus	N. caudatus	Putamen	Pallidum	Rinde
Männer: 3,0 ± 0,07 (12)	30,1 ± 1,8 (12)	39,6 ± 1,4 (9)	10,7 ± 0,7 (6)	1,5 ± 0,07 (12)
Frauen: 2,8 ± 0,09 (11)	28,0 ± 1,4 (10)	36,6 ± 1,6 (9)	9,5 ± 0,4 (8)	1,6 ± 0,1 (11)

Ausser in der Rinde sind die Werte der Männer höher als diejenigen der Frauen. Diese Differenz ist nicht signifikant und kann deshalb vernachlässigt werden. Die entsprechenden Zahlen³⁾, die den Wert 2 überschreiten sollten, um Signifikanz anzuzeigen, sind für Thalamus 1,75, N. caudatus 0,92, Putamen 1,40, Pallidum 1,49, Rinde 0,87.

5. Ch.E.-Gehalt und Lagerungsdauer des Gehirns nach dem Tod. Die Zahlen sind A.Ch.-Quotienten aus dem Thalamus Erwachsener. Es sind Mittelwerte. In Klammer: Zahl der Einzeluntersuchungen.

Weniger als 15 Stunden post mortem untersucht 3,0 (13)
 Mehr „ 15 „ „ „ „ 2,7 (9)

Unter den Fällen, die nach weniger als 15 Stunden post mortem untersucht worden sind, befinden sich zufälligerweise diejenigen mit den höchsten Absolutwerten (3 Individuen von über 80 Jahren).

1) *Nachmansohn*, C. r. Soc. Biol. **127**, 670 (1938).

2) *Zeller, Birkhäuser, Mislín, Wenk*, Helv. **22**, 1381 (1939).

3) $\frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\epsilon_1^2 + \epsilon_2^2}}$, worin m_1 und m_2 die Mittelwerte der beiden Versuchsreihen sind, ϵ_1 und ϵ_2 deren mittlere Fehler.

Der geringe Unterschied der Mittelwerte wird deshalb wahrscheinlich verschwinden, sobald grössere Untersuchungsreihen verglichen werden können. Dies ist um so mehr zu erwarten, als die in Tabelle 1 zusammengefassten Versuchsergebnisse selbst nach viertägiger Lagerung des Gehirns keine Schwankungen im Ch.E.-Gehalt zeigen, die die Fehlerbreite der Methodik überschreiten.

2. Mono-aminoxydase (A.O.).

Dieses Ferment, das von *Zeller*¹⁾ von der Diamin-oxydase oder Histaminase unterschieden worden ist, desaminiert Mono-amine wie Tyramin, Tryptamin, Amylamin, Adrenalin und spielt somit im intermediären Eiweiss- wie im Hormonstoffwechsel eine wichtige Rolle. Die Bestimmung erfolgt manometrisch in der *Warburg*-Apparatur im Anschluss an *Blaschko*, *Richter* und *Schlossmann*²⁾, modifiziert von *Zeller* (persönliche Mitteilung. Publikation in Vorbereitung).

Extrakt: Bereitung wie für die Bestimmung der Ch.E., bloss wird als Suspensionsflüssigkeit 2½-proz. NaCl-Lösung verwendet statt *Ringer*, und eine Verdünnung 1:15 hergestellt. Der Extrakt wird 1 Tag gegen Wasser und 1 Tag gegen Phosphatpuffer von p_H 7,2 in Cellophanschläuchen im Eisschrank dialysiert. Zusatz von Desinfektionsmitteln erübrigt sich. Nur in der NaCl- und der Pufferlösung sind einige Tropfen Toluol auf den Liter zugesetzt. Im Gegensatz zur Diamin-oxydase kann hier kein Oktylalkohol verwendet werden, da dadurch die Oxydation auf die Hälfte reduziert wird. Versuchsdauer 2 Stunden. Temperatur 38°.

Substrat: Tyramin (*Roche*) 0,25-m., gelöst in Phosphatpuffer von p_H 7,2. Davon werden 0,5 cm³ in den Anhang gebracht und nach Temperatúrausgleich zugekippt. — Im Hauptraum wird das Flüssigkeitsvolumen mit 0,5 cm³ Phosphatpuffer auf 3 cm³ ergänzt. — Im zentralen Zylinder: 0,1 cm³ KOH 10%. Gas: O₂, gewaschen in Ba(OH)₂. Durchströmungszeit 4 Minuten. Gesamtflüssigkeitsvolumen 3,1 cm³.

1. Die Dialysedauer kann weitgehend geändert werden, ohne dass die Fermentaktivität dadurch beeinflusst würde.

Tabelle 5.

Mono-aminoxydase: Einfluss von Konservierungszeit und Dialysedauer.
Zahlen: mm³ O₂ gebunden durch 0,132 g Gewebe/120 Min.

Extrakt: 1:15, Thalamus-Nucl. caudatus 3:1.

1 Tag Wasser 1 Tag Puffer				1 Tag Wasser 2 Tage Puffer			1 Tag Wasser 3 Tage Puffer		
Gefäss Nr. 1	2	3	Extrakt- kontrolle	1	2	Extrakt- kontrolle	1	2	Extrakt- kontrolle
164	170	164	3	164	166	4	158	164	3

1) *Zeller*, Helv. **21**, 880 (1938).

2) *Blaschko*, *Richter*, *Schlossmann*, Biochem. J. **31**, 2187 (1937).

2 Tage Wasser 2 Tage Puffer		Hirn 2 Tage im Eisschrank, danach 1 Tag Wasser, 1 Tag Puffer		
Gefäß Nr. 1	Extraktkontrolle	1	2	Extraktkontrolle
159	6	174	178	11
1 Tag Wasser 1 Tag Puffer, danach 2 Tage im Eisschrank		Extrakt 2 Tage im Eisschrank, danach 1 Tag Wasser, 1 Tag Puffer		
Gefäß Nr. 1	Extraktkontrolle	1	Extraktkontrolle	
164	6	166	10	

2. Die gute Haltbarkeit der A.O. ist aus der Tabelle 5 ersichtlich.

3. Fehlerbreite der Methodik. Unter 80 Doppelbestimmungen ist die Differenz zwischen den Einzelwerten 60 mal 3 % und weniger, 17mal zwischen 4 % und 9 %, 1mal 13 % (Vers. 158, Rinde), 1mal 17 % (Vers. 285, N. caudat.), 1mal 25 % (Vers. 278, Rinde). Der durchschnittliche Unterschied zwischen den Einzelwerten bei Doppelbestimmungen beträgt 4,5 %.

4. Mono-aminoxydase im Gehirn.

Tabelle 7.

Mono-aminoxydase. Durchschnittswerte.
mm³ O₂ verbraucht durch 100 mg Gewebe in 2 Stunden.
In Klammer: Zahl der Einzelwerte.

Thalamus	Nucl. caudatus	Putamen	
104 ± 8,7 (13)	93 ± 5,6 (13)	78 ± 9,2 (9)	Personen über 60 Jahren
90 ± 5,1 (6)	88 ± 4,3 (7)	73 ± 3,3 (7)	„ unter „ „
38 ± 2,3 (4)	24 ± 0,4 (4)		Kleinkinder

Pallidum	Rinde	
63 ± 6,2 (7)	50 ± 3,1 (13)	Personen über 60 Jahren
81 ± 5,1 (6)	47 ± 1,9 (7)	„ unter „ „
	19 ± 2,9 (3)	Kleinkinder

Allgemein fällt auf, dass die A.O. gleichmässiger im Gehirn verteilt ist als die Ch.E. Am höchsten ist der Gehalt im Thalamus.

Tabelle 6.
Mono-aminoxydase.

Versuch	Thalamus		Nucl. caudat.		Putamen		Pallidum		Rinde		Weisse Substanz	
	mm ³ 1)	mm ³ 2)	mm ³	µ mm ³ 100 mg	mm ³	mm ³ 100 mg	mm ³	mm ³ 100 mg	mm ³	mm ³ 100 mg	mm ³	mm ³ 100 mg
155 (153)	139	105	139	105					80	60		
158 (156)	167	126	132	100					65 ³⁾	47		
164 (162)	149	113	158	120					76	57	34	26
165 (163)	142	107	106	80					61	46	42	32
167 (165)	210	159	174	132	173	131			95	72		
171 (168)	123	93	109	82	104	79			60	45		
182 (189)	169	128	132	100	124	94			46	35		
201 (198)	98	74	94	71	83	63	70	53	65	47		
202 (199)	93	70	97	73	74	56	85	64	63	48		
205 (204)	111	84	105	70	123	93	96	73	70	53		
207 (206)	102	77	107	81	75	57	56	42	50	38		
211 (208)	78	59	115	84	72	54	64	48	44	33		
213 (210)	61	46	54	41	38	29	35	27	21	16 ⁴⁾		
218 (217)	97	73	110	83	82	62	98	74	68	51		
221 (219)	95	72	129	98	91	69	75	57	67	67		
222 (227)	116	88	97	74	100	76	127	96	62	47		
242 (240)	128	97	115	84	83	63	111	84	50	38		
251 (249)	130	98	132	100	106	80	125	95	74	56		
252 (250)	92	70	87	66								
255 (254)	127	96	114	86	100	76	96	73	75	57		
260 (259)	44	33	35	26								
268 (263)	210	159	142	106	110	83	122	92	88	67		
278 (275)	53	40	30	23					19	14		
279 (273)	125	95	132	100	108	82	107	81	60	45		
286 (284)	57	43	32	24					36	27		
285 (283)	48	36	34	25					24	18		

1) mm³ O₂ verbraucht durch 0,133 g Gewebe in 120 Minuten. 2) O₂-Verbrauch auf 100 mg Gewebe berechnet.

3) Doppelbestimmung mit 13% Differenz. 4) Alle Werte nach 150 Min.

() Eingeklammerte Werte: Versuchsnummer der Ch.E.-Bestimmungen. Siehe dort die übrigen Angaben.

Die Werte für *N. caudatus* liegen allerdings dicht daneben. In Putamen und Pallidum sind sie noch etwas niedriger, ohne sich eindeutig voneinander abzuheben. Diese Tatsache ist merkwürdig im Hinblick auf die verschiedene entwicklungsgeschichtliche Herkunft dieser Kerne. Ausserdem ist zu beachten, dass der Gehalt des Gewebes an markhaltigen Fasern, die im Pallidum bedeutend zahlreicher als im Putamen sind, keinen wesentlichen Einfluss auf den Fermentgehalt auszuüben scheint. Am geringsten ist der Gehalt wiederum in der Rinde, aber verhältnismässig bedeutend höher als derjenige an Ch.E. am gleichen Ort. Während sich maximale und minimale Ch.E.-Konzentration (Putamen und Rinde) wie etwa 22 : 1 verhält, ist dieselbe Beziehung für A.O. wie 2 : 1.

In eindeutiger Weise werden auch bei der A.O. im hohen Alter absolut und im Durchschnitt die höchsten Fermentwerte angetroffen, während sie beim Kleinkind am niedrigsten sind.

Beziehungen zu Geschlecht und Lagerungsdauer aufzusuchen, lohnt sich hier nicht, da die zu erwartenden Unterschiede in den Bereich der Fehlergrenze der Methodik fallen und die Zahl der Untersuchungen zu klein ist.

3. Diamin-oxydase.

Dieses von *Zeller*¹⁾ näher untersuchte Ferment desamidiert oxydativ Di- und Poly-amine wie Histamin, Cadaverin, Spermin. Es wurde ebenfalls im Gehirn nachzuweisen versucht, konnte aber nicht regelmässig gefunden werden. Allein im Pallidum werden gelegentlich Werte angetroffen, die die Anwesenheit des Fermentes beweisen. Häufig fehlt es jedoch; vielleicht geht es während der Lagerung zugrunde. Da sich die Frist zwischen Tod und Versuchsbeginn aus praktischen Gründen nicht verkürzen lässt, wurde auf weitere Untersuchungen verzichtet.

Vergleichswerte, die sich auf das menschliche Gehirn beziehen, sind uns aus der Literatur nicht bekannt. Übrige Literatur siehe *Zeller et al.*²⁾.

4. Cholin-oxydase.

Schon *Bernheim* und *Bernheim*³⁾ geben an, dieses Ferment im Gehirn nicht gefunden zu haben. Auch wir konnten es in 3 Fällen nicht nachweisen.

Methodik: wie für A.O., bloss dient als Substrat 0,1-m. Cholinchlorid, gelöst in Phosphatpuffer von p_H 7,2. Davon werden 0,5 cm³ in den Anhang gebracht.

1) *Zeller, Stern, Wenk*, 6. Mitt. über Diaminoxidase, *Helv.* **23**, 3 (1940).

2) *Zeller, Birkhäuser, Mislin, Wenk*, *Helv.* **22**, 1381 (1939).

3) *Bernheim und Bernheim*, *Am. J. Physiol.* **121**, 55 (1938).

Tabelle 8.

Diamin-Oxydase.

Versuch	Thalamus		Nucl. caudat.		Putamen		Pallidum		Rinde		Alter	Ge- schlecht	Fall Nr.	Versuchs- dauer
	mm ³ O ₂ 0,5 g Gewebe	Extr.- kon- trolle	mm ³ O ₂	Extr.- kon- trolle										
253	24,0	24,5	26,5	34,0	32,2	25,1	18,3	6,3	21,7	19,2	31	m	1	15 St. 40 Min.
257	15	12	17	16	22	24	19	12	19	13	49	w	2	21 St.
272 a							22	21			55	m	3	21 St. 30 Min.
b							30,5	26			75	w	4	
c							23	25			52	w	5	
280 a							46,5	49			—	w	6	
b							32	48			42	w	7	
c							25	25			58	m	8	
d							28,5	27			47	m	9	

Methodik: Extrakt 1:5, dialysiert wie oben beschrieben. Davon 2,5 cm³ im Hauptraum. Im Anhang 0,2—0,5 cm³ 0,01-m. Cadaverin + 0,3—0 cm³ Phosphatpuffer. Dazu je 1 Tropfen Octylalkohol. Im mittleren Zylinder 0,1 cm³ 10-proz. KOH. 4 Minuten durchströmt mit O₂, der in Ba(OH)₂ gewaschen. Temperatur 38°. Versuchsdauer wechselnd, in der letzten Kolonne vermerkt.

- | | | | |
|---|---|---|---|
| 1 | Tod durch Unfall. | 6 | Totgeburt. Fraktur der Halswirbelsäule. |
| 2 | Portio-Karzinom, Perforation der Blase. | 7 | Lungenembolie. |
| 3 | Perforationsperitonitis bei Ulcus pylori. | 8 | Bronchialkarzinom. |
| 4 | Arteriosklerose. Bronchopneumonie. | 9 | Magenkarzinom, Anämie. |
| 5 | Inoperables Magenkarzinom. | | |

Schlussfolgerung und Zusammenfassung.

Was hier als „Normalzahlen“ für Ch.E. und A.O. angegeben wird, gilt zwar für geistig normale Menschen. Es darf jedoch nicht übersehen werden, dass mit Naturnotwendigkeit nur Gehirne von körperlich Kranken untersucht werden können. Meist stammen sie von alten Leuten. Tödliche Unfälle sind zu selten, als dass darauf gewartet werden könnte. Die vorliegenden Untersuchungen wurden trotzdem durchgeführt, weil nicht von vornherein feststeht, ob sich nicht mit diesem in gewisser Hinsicht unvollkommenen Material verwertbare Ergebnisse gewinnen lassen.

Es lässt sich jetzt schon sagen, dass bei Verwendung der oben beschriebenen Methoden in pathologischen Gehirnen die Fermentwerte stark von den hier gefundenen Mittelwerten abweichen müssen, um eindeutig als krankhaft bezeichnet werden zu können. Sollte eine Abweichung des Mittelwerts gefunden werden, die grösser ist als der hier angegebene mittlere Fehler, so wird es sich mit einer Wahrscheinlichkeit von 2 : 1 um einen wahren Unterschied handeln.

1. Cholin-esterase, die im menschlichen Gehirn in kennzeichnender Verteilung vorkommt, ist weitgehend stabil gegen zeitliche und pathologisch-anatomische Änderungen. Ähnliches gilt für die Monoaminoxidase.

2. Die physiologische Schwankungsbreite des Gehaltes an beiden Fermenten wird angegeben.

3. Beide Fermente kommen zur Zeit der Geburt und im Alter in kennzeichnend verschiedenen Konzentrationen vor.

4. Diamin-oxidase lässt sich nicht regelmässig nachweisen.

5. Cholin-oxidase fehlt im menschlichen Gehirn.

Herrn P. D. Dr. med. und phil. *E. A. Zeller* danke ich für seine technischen Ratschläge und Frä. *A. Buser* für die gewissenhafte Durchführung der Versuche.

Medizinische Universitätsklinik Basel.

Vorsteher: Prof. Dr. *R. Staehelin*.