Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
9. Jg., S. 249—256, Mai 1971

Wirkung von Hormonen auf Elektrolytgehalt, ATPase¹⁾ und endoplasmatisches Retikulum im Rattenhirn

Von H. EBEL, J. R. WOLFF, F. DORN und TH. GÜNTHER

Aus dem Institut für Klinische Physiologie, dem 2. Anatomischen und dem Physiologisch-Chemischen Institut der Freien Universität Berlin

(Eingegangen am 29. Januar 1971)

In vier Hirnabschnitten wurde der Einfluß von Hormonen der Nebennierenrinde und der Schilddrüse auf den Elektrolytgehalt, die ATPase-Aktivität und auf das endoplasmatische Retikulum untersucht.

Elektrolyte: Nach Adrenalectomie nahm der Gehalt von Na, K und Mg zu; der Zn-Gehalt war nicht verändert. Physiologische Dosen von Aldosteron, nicht aber von Cortison normalisierten den Elektrolytgehalt. Nach Behandlung mit Methylthiouracil stieg der Gehalt von Na an, der von K und Mg nahm ab. Der Zn-Gehalt war im vorderen Stammhirn erniedrigt. Bei Thyroxin-behandelten Tieren nahm der Na-Gehalt ab, der von K und Mg war unverändert. Im vorderen Stammhirn sank der Zn-Gehalt.

ATPase: Die Aktivitäten der Mg-ATPase und der Na, K-ATPase nahmen in der Synaptosomenfraktion nach Adrenalectomie zu und waren in den Mikrosomen vermindert. Physiologische Dosen von Aldosteron senkten die gesteigerte Na, K-ATPase Aktivität, führten aber zu keiner vollständigen Normalisierung. Die Behandlung mit Methylthiouracil oder Thyroxin hatte keinen Einfluß auf die ATPase-Aktivität in Synaptosomen und Mikrosomen.

Ultrastruktur: Bei adrenalectomierten Ratten schollen Anteile des endoplasmatischen Retikulums in den Pyramiden-Zell-Dendriten des Großhirns. In den Purkinje-Zell-Dendriten des Kleinhirns desaggregierte das endoplasmatische Retikulum. Physiologische Dosen von Aldosteron wirkten nicht normalisierend. Nach Behandlung mit Methylthiouracil war das endoplasmatische Retikulum in den Pyramiden-Zell-Dendriten des Großhirns und in den Purkinje-Zell-Dendriten des Kleinhirns stark erweitert, die Aggregation blieb erhalten. Die Behandlung mit Thyroxin ergab nur geringfügige Änderungen.

Die Beziehungen zwischen cerebralem Elektrolytgehalt, ATPase und Struktur des endoplasmatischen Retikulums werden diskutiert.

The effect of hormones on the levels of electrolytes, ATPase and the structure of the endoplasmic reticulum in rat brain

The influence of hormones of the adrenal cortex and of the thyroid on the electrolyte concentration, ATPase activity and the structure of the endoplasmic reticulum was investigated in four regions of the rat brain.

Electrolytes. After adrenalectomy the concentration of Na, K and Mg was increased and the Zn concentration was unchanged. Physiological doses of aldosterone but not of cortisone normalized the electrolyte concentrations. After treatment with methylthiouracil the level of Na increased and K and Mg were diminished. In thyroxine-treated animals Na was decreased and K and Mg were unchanged. In the brain stem, Zn decreased.

ATPase. The activities of Mg-ATPase and Na, K-ATPase increased in the synaptosomes after adrenalectomy and decreased in the microsomes. Physiological doses of aldosterone diminished the increased Na, K-ATPase activity without normalizing it. Treatment with methylthiouracil or thyroxine exerted no influence on ATPase activity in synaptosomes and microsomes.

Ultrastructure. In adrenalectomized rats part of the endoplasmic reticulum within the pyramidal cell dendrites of the cerebral cortex was enlarged. In the Purkinje cell dendrites of the cerebellum the aggregates of endoplasmic reticulum fell into smaller pieces. After treatment with methylthiouracil the endoplasmic reticulum of the pyramidal cell dendrites of the cerebral cortex and the Purkinje cell dendrites of the cerebellum was enlarged and the aggregates were maintained. Treatment with thyroxine resulted in no striking changes. The relationship of cerebral electrolyte content, ATPase and structure of the endoplasmic reticulum are discussed.

Die Funktion des erwachsenen Hirns wird von Hormonen der Nebennierenrinde und der Schilddrüse beeinflusst. Patienten mit Morbus Addison können unter einer erhöhten Erregbarkeit, Ausbrüchen von Angst, Depressionen, Halluzinationen und paranoiden Psychosen leiden (1—4). Bei adrenalectomierten Tieren wurde eine Erniedrigung der Elektroschockreizschwelle (5, 6) sowie eine verminderte Frequenz im Elektrocorticogramm (7) beobachtet. Bei der Ableitung von Einzelpotentialen aus der Formatio reticularis des Mittelhirns trafen die mit peripherer Reizung provozierten Potentiale bei adrenalectomierten Katzen verspätet ein (8). Bei Änderungen des Funktionszustandes der Schilddrüse fallen ebenfalls Störungen der Hirnfunktion auf.

Die im Erwachsenenalter erworbene Hypothyreose ist von einer allgemeinen Verlangsamung des Denkens und Handelns begleitet, während Hyperthyreose durch eine nervöse Übererregbarkeit charakterisiert sind. Bei hypothyreoten Versuchstieren, die neonatal mit ¹³¹J thyreoidektomiert worden waren, wurde eine erhöhte Elektroschockreizschwelle festgestellt (9). Im Elektrocorticogramm war die Amplitude der nach peripherer Reizung registrierten Potentialschwankungen verkleinert, die Potentialdauer verlängert und die Zeit bis zum Eintreffen der Potentiale (Latenzzeit) vergrößert (10, 11). Trijodthyronin hingegen vergrößerte nach peripherer Reizung die Amplitude von Potentialen im Elektoretinogramm (12) beziehungsweise verminderte die Frequenz der aus Einzelneuronen abgeleiteten Potentiale (13).

¹⁾ ATPase = ATP phosphohydrolase.

Die elektrische Aktivität von Zellen und Nerven hängt unter anderem von der extra- und intrazellulären Na- und K-Konzentration ab. Über eine hormonelle Regulation des cerebralen Na- und K-Gehaltes ist jedoch im Unterschied zu anderen Organen wenig und widersprüchliches bekannt. So wurden z. B. nach Adrenalectomie sowohl ein gleichbleibender Na- und K-Gehalt (14, 15) als auch ein Anstieg des Na-Gehaltes bei unverändertem K-Gehalt (5) und schließlich auch ein unveränderter Na-Gehalt bei absinkendem K-Gehalt (16) gemessen. In anderen Organen ist es jedoch sicher, daß Aldosteron den aktiven Na-Transport fördert, z. B. in der Froschhaut und Krötenblase (17–19) und im proximalen wie auch distalen Tubulus der Ratteniere (20). In der Leber vermindert Aldosteron den intrazellulären Na- und Mg-Gehalt und erhöht den von K (21, 22).

Aldosteron wirkt über die Induktion der DNA-abhängigen RNA-Synthese, die zu einer vermehrten Bildung von Proteinen führt (23). Soweit bisher bekannt ist, werden Enzym-Proteine induziert, denn die spezifische Aktivität einiger Enzyme des Citronensäurezyklus steigt unter dem Einfluß von Aldosteron an (24, 25). Die in der Folge vermehrte Produktion an energiereichen Intermediaten soll den aktiven Na-Transport fördern (26). Die Na, K-ATPase-Aktivität, die wahrscheinlich eng mit dem aktiven Transport von Na und K verbunden ist (27, 28), wird ebenfalls von Aldosteron erhöht (29, 30).

Die vorliegende Arbeit soll zum Verständnis der cerebralen Funktionsänderungen beitragen. Bei Ratten wurde der Einfluß von Adrenalectomie, der Behandlung mit Methylthiouracil oder Thyroxin auf die Elektrolytverteilung im Hirn untersucht und mit der Na, K-ATPase-Aktivität verglichen. Außerdem wurde geprüft, ob die hormonabhängige Elektrolytverteilung mit Strukturänderungen der Zelle einhergeht.

Material und Methoden

Tiergruppen

Die Versuche wurden an weiblichen Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 150–200 g durchgeführt. Die Tiere wurden bei einer Raumtemperatur von 28° gehalten und erhielten Standardpreßfutter (Altromin) sowie Trinkwasser nach Belieben.

Es wurden verschiedene Tiergruppen gebildet:

1. Kontrolltiere

2. Adrenalectomierte Ratten

Die Tiere wurden in leichter Äthernarkose nach einer von HIERHOLZER und Mitarbeitern (20) angegebenen Methode bilateral adrenalectomiert. Sie erhielten postoperativ 0,9proz. NaCl-Lösung als Trinkflüssigkeit. Die adrenalectomierten Tiere wurden in drei Gruppen geteilt:

a) Ohne Hormonsubstitution

b) Aldosteron-Behandlung. Die Tiere erhielten vom 7.–10. Tag nach der Operation 2mal täglich 2,5 µg/100 g D-Aldosteron (Aldocorten, CIBA) subcutan injiziert.

c) Cortison-Behandlung. Den Tieren wurde vom 7.–10. Tag nach der Operation einmal täglich 4 mg/100 g kristallines Cortisonacetat (Cortison, CIBA) subcutan injiziert. Am 10. Tag wurden alle Tiere getötet. Das Hirn wurde zur Analyse entnommen.

3. Methylthiouracil behandelte Ratten

Methylthiouracil wurde mit dem Futter verabreicht. Die Tiere erhielten ein 0,1 g/100 g Methylthiouracil enthaltenes Futter über einen Zeitraum von 8–10 Wochen.

4. Thyroxin behandelte Ratten

Thyroxin (L-Thyroxin, Calbiochem Inc.) wurde in 0,05N NaOH gelöst und mit 5proz. Glucoselösung verdünnt. Die Tiere erhielten über 14 Tage eine Dosis von 100 µg/100 g.

Analysen

Elektrolyte

Zur Bestimmung der Elektrolytkonzentration im Serum wurden unter leichter Äthernarkose 50 µl Blut aus der Vena jugularis in heparinisierte Kapillaren entnommen.

Zur Analyse des Elektrolytgehaltes im Hirngewebe wurde das Organ in die Abschnitte Großhirn, vorderes Stammhirn, Kleinhirn und Medulla oblongata einschließlich Brücke zerlegt. Das anhaftende Blut wurde mit Filterpapier abgetupft und das Feuchtgewicht gewogen. Die Hirnteile wurden anschließend 5 Tage bei 60° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und danach mit einem Achat-Mörser pulverisiert. Jeweils 15 mg Trockensubstanz wurden mit 0,3 ml 0,6N Trichloressigsäurelösung über 60 Min. bei 100° aufgeschlossen, mit bidest. Wasser verdünnt und bei 4° zentrifugiert. Der Überstand wurde je nach Elektrolytanalyse verschieden verdünnt.

Na und K wurden flammenphotometrisch, Mg mit der Titangelmethode von ORANGE und RHEIN (31) und Zn mittels Atomabsorptionsphotometrie (32) bestimmt. Die Elektrolytgehalte im Hirn wurden in mVal/kg Feuchtgewicht ohne Abzug des extrazellulären Flüssigkeitsraumes angegeben. Die Umrechnung von Trockengewicht in Frischgewicht, die Berechnung des intrazellulären und extrazellulären Elektrolytanteils erfolgten wie in einer früheren Arbeit (22). Für die Berechnung des „intrazellulären Elektrolytgehaltes“ wurde ein extrazellulärer Flüssigkeitsraum von 15 Vol% (33, 34) eingesetzt, und zwar bei allen Tiergruppen.

Präparation der subzellulären Fraktionen

Das gesamte Rattenhirn wurde in einer Lösung von Saccharose 250 mM, EDTA 2 mM, Imidazol-HCl 70 mM bei pH 7,5 mit einem motorgetriebenen PORTER-ELVEHJEM-Gerät schonend homogenisiert. Das Verhältnis von Hirngewicht zum Homogenisationsmedium betrug 1 g zu 5 ml. Aus dem gefilterten Homogenat wurden zwei Fraktionen isoliert:

a) Synaptosomen-Fraktion (700–1200 g-Sediment)

Das Homogenat wurde mit 700 g über 10 Min. zentrifugiert und das Sediment verworfen. Der verbleibende Überstand wurde noch zweimal jeweils mit 700 g über 10 Min. zentrifugiert; die Sedimente wurden verworfen. Der Überstand wurde mit 1500 g zentrifugiert. Das Sediment wurde in 1 mM EDTA-Lösung von pH 7,5 resuspendiert und zweimal mit 1200 g über 20 Min. gewaschen. Anschließend wurde das Sediment nach einer von EBEL und Mitarbeitern (35) angegebenen Methode mit 3M NaJ-Lösung für 10 Min. extrahiert. Die verbleibenden Membranreste wurden mit 30000 g über 30 Min. sedimentiert und danach zweimal in 1 mM EDTA Lösung mit 30000 g über 15 Min. gewaschen. Am Ende wurde das Sediment in 1 mM EDTA suspendiert und 24 Stdn. bei –21° gelagert.

b) Mikrosomen-Fraktion (10000–35000 g-Sediment)

Der Überstand der 1500 g Zentrifugation (s. o.) wurde mit 10000 g über 10 Min. sedimentiert. Das Sediment wurde verworfen und der Überstand mit 35000 g über 30 Min. zentrifugiert. Dieses Sediment wurde in 1 mM EDTA-Lösung von pH 7,5 rehomogenisiert und danach mit 10000 g über 10 Min. zentrifugiert. Der Überstand wurde nochmals mit 35000 g über 30 Min. zentrifugiert. Dieses Sediment wurde wie in der Synaptosomen-Fraktion mit einer 3M NaJ-Lösung extrahiert, in diesem Falle über 30 Min. Die verbleibenden Membranreste wurden mit 35000 g über 30 Min. sedimentiert und zweimal mit 1 mM EDTA bei 35000 g über 30 Min. gewaschen. Die Endsuspension erfolgte in 1 mM EDTA und wurde bei –21° bis zur Bestimmung der Enzymaktivität 24 Stdn. gelagert.

Bestimmung der ATPase-Aktivitäten

Die Mg-ATPase wurde in folgendem Medium bestimmt: MgCl_2 3 mm, ATP-Imidazol 3 mm, Imidazol-HCl 70 mm und pH 7,5. Die Mg, Na, K-ATPase-Aktivität wurde nach Zusatz von NaCl 100 mm und KCl 20 mm gemessen. Als Na, K-ATPase wurde die Differenz von Mg, Na, K-ATPase und Mg-ATPase bezeichnet. Die Reaktion wurde bei 37° durch Zugabe von Enzymprotein gestartet und nach 30 Min. durch die Zugabe von eisgekühlter Trichloressigsäure unterbrochen. Anorganisches Phosphat wurde im Überstand nach FISKE und SUBBAROW (36) bestimmt, Protein nach LOWRY und Mitarbeitern (37) mit kristallinem Rinderalbumin (Behringwerke) als Standard. Das Na-freie ATP wurde durch Umsalzen von ATP-Na mit Dowex-50-H⁺, wie früher angegeben (35), gewonnen.

Elektronenmikroskopie

Das Hirn wurde in Narkose durch Perfusion (30 Min.) und anschließend durch Immersion (60 Min.) mit einer hypertonen Lösung fixiert. Sie bestand aus 3% Glutaraldehyd und 3% Paral-

dehyd in 0,2M Cacodylatpuffer von pH 7,2. Die Nachfixierung erfolgte in isotoner Lösung, die 1% Osmiumtetroxid in 0,2M Cacodylatpuffer enthielt. Nach Entwässerung mit Aceton wurde in Mikropal (Ferak, Berlin) eingebettet. Die Dünnschnitte wurden auf einem Reichert-Mikrotom, die elektronenmikroskopischen Aufnahmen mit einem Siemens Elmiskop Ia bei 80 KV Strahlspannung hergestellt.

Statistische Auswertung

Es wurden Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben. Die Beurteilung erfolgte mit Hilfe des t-Testes, dem die Vorprobe nach FISCHER vorausging.

Ergebnisse**Adrenalektomie**

Die Konzentrationen der Elektrolyte im Serum und im Hirngewebe ist in Tabelle 1 wiedergegeben. Bei adre-

Tab. 1
Elektrolytgehalt in Serum und Hirn verschieden behandelter Tiergruppen. Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes in mVal/kg Feuchtgewicht. Es ist * $p < 0,05$, ** $p < 0,025$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$

	Serum	Großhirn	vorderes Stammhirn	Kleinhirn	Medulla + Pons
Na [mVal/kg]					
Kontrolle	144,2 $\pm$ 0,2 n = 19	33,6 $\pm$ 0,7 n = 14	32,5 $\pm$ 0,3 n = 16	32,6 $\pm$ 0,6 n = 16	34,5 $\pm$ 0,4 n = 16
Adrenalektomie	132,2 $\pm$ 0,7**** n = 8	40,0 $\pm$ 0,6**** n = 7	36,6 $\pm$ 0,5**** n = 8	36,5 $\pm$ 0,3**** n = 7	38,2 $\pm$ 0,5**** n = 7
Adrenalektomie + Cortison	140,4 $\pm$ 1,0*** n = 7	39,7 $\pm$ 0,5*** n = 7	36,0 $\pm$ 0,4**** n = 8	36,1 $\pm$ 0,4**** n = 7	40,0 $\pm$ 0,3**** n = 7
Adrenalektomie + Aldosteron	144,0 $\pm$ 0,8 n = 6	35,4 $\pm$ 0,3 n = 8	34,0 $\pm$ 0,2**** n = 7	34,6 $\pm$ 0,2*** n = 8	35,5 $\pm$ 0,2 n = 8
Methylthiouracil	148,8 $\pm$ 0,8**** n = 13	38,0 $\pm$ 0,3**** n = 9	37,6 $\pm$ 0,3**** n = 9	35,1 $\pm$ 0,3**** n = 9	36,7 $\pm$ 0,5**** n = 9
Thyroxin	144,1 $\pm$ 1,1 n = 7	31,2 $\pm$ 0,6** n = 17	29,2 $\pm$ 0,2**** n = 17	30,0 $\pm$ 0,2*** n = 17	32,5 $\pm$ 0,4** n = 17
K [mVal/kg]					
Kontrolle	4,05 $\pm$ 0,04 n = 17	91,6 $\pm$ 0,5 n = 18	88,0 $\pm$ 0,3 n = 17	88,2 $\pm$ 0,7 n = 17	82,9 $\pm$ 0,6 n = 17
Adrenalektomie	5,41 $\pm$ 0,27**** n = 7	95,5 $\pm$ 0,4**** n = 8	91,7 $\pm$ 0,6*** n = 7	92,7 $\pm$ 0,5*** n = 7	86,5 $\pm$ 0,6**** n = 7
Adrenalektomie + Cortison	4,69 $\pm$ 0,23**** n = 7	96,2 $\pm$ 0,9**** n = 10	92,8 $\pm$ 0,5**** n = 8	94,1 $\pm$ 0,5**** n = 8	87,5 $\pm$ 0,7**** n = 11
Adrenalektomie + Aldosteron	4,37 $\pm$ 0,34 n = 6	91,8 $\pm$ 1,0 n = 7	88,0 $\pm$ 0,8 n = 8	88,7 $\pm$ 0,3 n = 7	81,1 $\pm$ 0,6 n = 8
Methylthiouracil	3,46 $\pm$ 0,17*** n = 13	87,9 $\pm$ 0,5**** n = 9	85,4 $\pm$ 0,5**** n = 9	83,5 $\pm$ 0,4**** n = 9	75,2 $\pm$ 0,5**** n = 9
Thyroxin	4,37 $\pm$ 0,11*** n = 17	92,0 $\pm$ 0,6 n = 8	88,4 $\pm$ 0,3 n = 8	89,9 $\pm$ 0,5 n = 8	81,4 $\pm$ 0,7 n = 8
Mg [mVal/kg]					
Kontrolle	1,40 $\pm$ 0,02 n = 8	13,80 $\pm$ 0,10 n = 18	13,57 $\pm$ 0,06 n = 18	13,60 $\pm$ 0,12 n = 18	14,56 $\pm$ 0,15 n = 18
Adrenalektomie	1,62 $\pm$ 0,02**** n = 8	14,39 $\pm$ 0,19** n = 6	14,20 $\pm$ 0,12**** n = 6	14,09 $\pm$ 0,20* n = 6	14,76 $\pm$ 0,13 n = 7
Adrenalektomie + Cortison	1,58 $\pm$ 0,02**** n = 8	13,85 $\pm$ 0,60 n = 6	14,41 $\pm$ 0,25* n = 9	13,62 $\pm$ 0,13 n = 7	15,10 $\pm$ 0,39 n = 8
Adrenalektomie + Aldosteron	1,38 $\pm$ 0,01 n = 9	13,45 $\pm$ 0,13 n = 7	13,70 $\pm$ 0,16 n = 6	13,69 $\pm$ 0,10 n = 6	14,37 $\pm$ 0,19 n = 6
Methylthiouracil	1,30 $\pm$ 0,02* n = 5	12,32 $\pm$ 0,10**** n = 8	12,21 $\pm$ 0,04**** n = 8	11,75 $\pm$ 0,03**** n = 8	13,47 $\pm$ 0,07**** n = 8
Thyroxin	1,59 $\pm$ 0,01**** n = 8	14,14 $\pm$ 0,07 n = 8	14,05 $\pm$ 0,10 n = 9	14,18 $\pm$ 0,07 n = 9	15,00 $\pm$ 0,08 n = 8
Zn [mVal/kg]					
Kontrolle	0,0552 $\pm$ 0,0026 n = 32	0,4580 $\pm$ 0,0062 n = 13	0,3838 $\pm$ 0,0026 n = 15	0,3966 $\pm$ 0,0084 n = 11	0,2858 $\pm$ 0,0061 n = 11
Adrenalektomie	0,0460 $\pm$ 0,0034*** n = 11	0,4384 $\pm$ 0,0027 n = 12	0,3680 $\pm$ 0,0037 n = 8	0,3406 $\pm$ 0,0059 n = 8	0,2904 $\pm$ 0,0058 n = 12
Methylthiouracil	0,0588 $\pm$ 0,0016 n = 12	0,4690 $\pm$ 0,0039 n = 11	0,3578 $\pm$ 0,0028* n = 10	0,3856 $\pm$ 0,0056 n = 11	0,3048 $\pm$ 0,0045 n = 11
Thyroxin	0,0630 $\pm$ 0,0020** n = 12	0,4298 $\pm$ 0,0018* n = 10	0,3562 $\pm$ 0,0022* n = 10	0,4254 $\pm$ 0,0099 n = 8	0,3066 $\pm$ 0,0012 n = 11
H₂O [% des Feuchtgewichts]					
Kontrolle		78,40 $\pm$ 0,05 n = 10	76,64 $\pm$ 0,06 n = 10	76,99 $\pm$ 0,11 n = 10	71,27 $\pm$ 0,07 n = 10
Adrenalektomie		79,00 $\pm$ 0,14**** n = 8	78,07 $\pm$ 0,22**** n = 7	78,20 $\pm$ 0,14**** n = 7	72,63 $\pm$ 0,13**** n = 7
Adrenalektomie + Cortison		78,33 $\pm$ 0,10 n = 10	76,74 $\pm$ 0,09 n = 10	77,21 $\pm$ 0,07 n = 10	71,53 $\pm$ 0,07** n = 10
Adrenalektomie + Aldosteron		78,44 $\pm$ 0,05 n = 8	76,31 $\pm$ 0,37 n = 8	77,17 $\pm$ 0,15 n = 7	71,38 $\pm$ 0,12 n = 8
Methylthiouracil		78,56 $\pm$ 0,08 n = 10	76,87 $\pm$ 0,07 n = 10	76,68 $\pm$ 0,09 n = 10	71,34 $\pm$ 0,08 n = 10
Thyroxin		78,21 $\pm$ 0,07 n = 8	76,88 $\pm$ 0,08 n = 8	76,65 $\pm$ 0,12 n = 8	71,35 $\pm$ 0,10 n = 8

nalektomierten Ratten, die 0,9proz. NaCl-Lösung erhielten, nahmen im Serum die Konzentrationen von Na und Zn ab. Die K- und Mg-Konzentrationen waren erhöht. Die Behandlung der Tiere mit hohen Dosen von Cortison normalisierte die veränderten Elektrolytkonzentrationen nicht. Mit niedrigen Dosen Aldosteron hingegen blieben die Na-, K- und Mg-Konzentration im Normalbereich.

Der Wasseranteil am Hirngewicht war nach Adrenalectomie in allen Abschnitten erhöht. Erhielten die Tiere Cortison oder Aldosteron, dann blieb der Wassergehalt in allen Hirnabschnitten im Bereich der Kontrollwerte.

Der Na-Gehalt nahm in allen Hirnabschnitten nach Adrenalectomie zu. Der K-Gehalt stieg ebenfalls an. Berücksichtigt man jedoch den höheren Wassergehalt im Hirngewebe und die größere K-Konzentration im Serum, dann schien die „intrazelluläre“ K-Konzentration wenig verändert zu sein. Der Gehalt von Mg nahm in allen Hirnabschnitten geringfügig, aber signifikant zu. Der Zn-Gehalt war unverändert. Die Behandlung der nierenlosen Tiere mit hohen Dosen von Cortison vermochte die Zunahme des cerebralen Na-Gehaltes nicht zu verhindern. Physiologische Dosen von Aldosteron normalisierten die veränderte Elektrolytverteilung von adrenalectomierten Ratten. Nur im vorderen Stammhirn und im Kleinhirn waren die Na-Konzentrationen noch geringfügig, aber signifikant erhöht.

Die ATPase-Aktivitäten wurden jeweils in zwei subzellulären Fraktionen bestimmt: in einer „Synaptosomen“ enthaltenden Fraktion und einer mikrosomalen Fraktion. Die „Synaptosomen“-Fraktion bestand, wie Abbildung 1 zeigt, vor allem aus präsynaptischen Ele-

Abb. 1

Ausschnitt aus einer „Synaptosomen“-Fraktion vor der Behandlung mit NaJ. Sie besteht aus neuronalen Elementen. Pr = Präsynaptische Elemente bzw. Synaptosomen, D = Dendriten, M = Mitochondrien, My = Myelin. Vergrößerung 27500:1

menten bzw. Synaptosomen, daneben aber auch aus Bruchstücken von Dendriten, Axonen und Myelin. Sie enthielt nur wenige Fortsatzteile, wahrscheinlich Oligo- und Mikrogliafortsätze. Es wurden keine als solche erkennbaren Astrogliabruchstücke und keine Zellkerne beobachtet. — Auf eine elektronenmikroskopische Charakterisierung der mit einer Standardmethode präparierten Mikrosomen wurde verzichtet.

Die ATPase-Aktivitäten der verschiedenen Tiergruppen sind in der Tabelle 2 enthalten. In der Synaptosomen-Fraktion von adrenalectomierten Ratten nahm die Aktivität der Mg-ATPase auf das Dreifache zu. Die Na, K-ATPase stieg auf das Doppelte an. Die Behandlung mit Aldosteron senkte die erhöhte Na, K-ATPase-Aktivität der Synaptosomen. Die Werte der Kontroll-

Abb. 2

Ausschnitte aus dem Neuropil der Großhirnrinde der Ratte. a) normal, b) nach Adrenalectomie, c) nach Methylthiouracil-Behandlung, d) nach Thyroxin-Gabe. ER = endoplasmatisches Retikulum, das bei * erweitert ist, P = Perikaryon einer Nervenzelle. Vergrößerung 7500:1

tiere wurden jedoch nicht erreicht. In der mikrosomalen Fraktion bestand in der Aktivität der Mg-ATPase kein Unterschied zwischen beiden Tiergruppen. Die Na, K-ATPase-Aktivität der adrenalectomierten Ratten war um etwa 30% vermindert.

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von Dünnschnittpräparaten des Großhirns (Abb. 2) und des Kleinhirns (Abb. 3) fiel vor allem eine Veränderung des endoplasmatischen Retikulums in bestimmten Dendriten auf. Bei normalen Tieren befanden sich in den Pyramiden-Zell-Dendriten des Großhirns neben einer großen Zahl von Mikrotubuli nur einzelne Profile des endoplasmatischen Retikulums in Form von flachen Säcken oder Schläuchen (Abb. 2a). Nach Adrenalectomie war eine Schwellung einzelner Anteile des endoplasmatischen Retikulums zu beobachten (Abb. 2b).

Abb. 3

Ausschnitte aus der Molekularschicht der Kleinhirnrinde der Ratte. a) normal, b) nach Adrenalectomie, c) nach Methylthiouracil-Behandlung, d) nach Thyroxin Gabe. ER = endoplasmatisches Retikulum der Purkinje-Zell-Dendriten in (a) aggregiert, in (b) disaggregiert, das in * erweitert ist. Vergrößerung 7500:1

Im Kleinhirn von normalen Tieren zeigten sich innerhalb der Purkinje-Zell-Dendriten die typischen Aggregationen von flachen Säcken des endoplasmatischen Retikulums (Abb. 3a). Nach Adrenalectomie zerfielen die großen Säcke des endoplasmatischen Retikulums in kleinere Teile und waren nicht mehr aggregiert. Das endoplasmatische Retikulum war hier nur geringfügig aufgebläht (Abb. 3b). Nach Behandlung der adrenalectomierten Ratten mit physiologischen Dosen von Aldosteron hatten sich die morphologischen Änderungen nicht normalisiert. Im Großhirn verhielt sich das endoplasmatische Retikulum der Hauptdendriten der aldosteronbehandelten Tiere nicht einheitlich: es war z. T. noch erweitert, z. T. sogar verengt und sonst unauffällig. Im Kleinhirn lag das endoplasmatische Retikulum der Purkinje-Zell-Dendriten nicht mehr in der aggregierten Form vor, sondern es erschienen kleine

nicht erweiterte Cisternen, die ziemlich gleichmäßig im Cytoplasma verteilt waren. Andere Veränderungen, insbesondere Volumenänderungen der verschiedenen Anteile des Neuropils wurden nicht gesehen.

Behandlung mit Methylthiouracil

Im Serum von Ratten, die mit Methylthiouracil behandelt waren, nahm die Na-Konzentration zu und die K- und Mg-Konzentration ab (Tab. 1). Die Zn-Konzentration war unverändert.

Der Wasseranteil am Hirngewicht blieb in allen Hirnabschnitten gleich (Tab. 1). Der Na-Gehalt war in allen Abschnitten erhöht. Trotz der erhöhten Na-Konzentration im Serum nahm die berechnete „intrazelluläre“ Konzentration unter der Voraussetzung zu, daß der extrazelluläre Flüssigkeitsraum gegenüber der Kontrolle unverändert war. Der K-Gehalt nahm in allen Hirnabschnitten ab. Die berechnete „intrazelluläre“ K-Konzentration schien jedoch nur im Kleinhirn und der Medulla verändert zu sein. Der Mg-Gehalt fiel in allen Hirnabschnitten ab. Der Zn-Gehalt war im vorderen Stammhirn vermindert und in allen anderen Hirnabschnitten unverändert.

Die ATPase-Aktivitäten der mit Methylthiouracil behandelten Tiere sind in der Tabelle 2 enthalten. In der Synaptosomen-Fraktion blieb die Mg-ATPase gleich. Die Aktivität der Na, K-ATPase nahm zwar im Mittel um 25% zu, allerdings bestand kein signifikanter Unterschied zum Kontrollwert. In der mikrosomalen Fraktion waren die Mg-ATPase und Na, K-ATPase-Aktivitäten unverändert.

Die morphologischen Veränderungen gehen aus den elektronenmikroskopischen Aufnahmen in Abbildung 2 und 3 hervor. Im Großhirn zeigten die Pyramiden-Zell-Dendriten nach der Behandlung mit Methylthiouracil eine allgemeine starke Aufblähung der Säcke und Schläuche des endoplasmatischen Retikulums (Abb. 2c), z. T. auch in den Perikarya. Im Kleinhirn war ebenfalls eine relativ starke Erweiterung der meist aggregierten Säcke des endoplasmatischen Retikulums in den Dendriten und Perikarya der Purkinje-Zellen zu beobachten (Abb. 3c). Im Unterschied zur Adrenalectomie blieb die Aggregation des endoplasmatischen Retikulums erhalten.

Tab. 2

ATPase-Aktivitäten in der „Synaptosomen“-Fraktion und in Mikrosomen verschieden behandelter Tiergruppen. Es ist * $p < 0,05$

	Mg-	Mg, Na, K- ATPase [$\mu\text{Mol P/mg Protein} \cdot \text{Std.}$]	Na, K-	n
Kontrolle Synaptosomen	6,6 $\pm$ 1,4	13,9 $\pm$ 2,2	7,3 $\pm$ 1,2	13
Adrenalectomie	14,8 $\pm$ 4,9*	28,8 $\pm$ 6,5*	14,0 $\pm$ 2,6*	13
Kontrolle Synaptosomen	10,6 $\pm$ 1,0	25,0 $\pm$ 1,2	14,4 $\pm$ 0,8	12
Adrenalectomie + Aldosteron	13,1 $\pm$ 1,2	30,6 $\pm$ 2,2*	17,5 $\pm$ 1,1*	12
Kontrolle Mikrosomen	20,7 $\pm$ 3,3	40,9 $\pm$ 2,7	20,2 $\pm$ 2,7	12
Adrenalectomie	20,2 $\pm$ 3,5	33,1 $\pm$ 2,7*	12,9 $\pm$ 2,0*	12
Kontrolle Synaptosomen	6,5 $\pm$ 1,6	13,0 $\pm$ 1,7	6,5 $\pm$ 2,0	17
Methylthiouracil	6,9 $\pm$ 1,8	15,3 $\pm$ 0,9	8,4 $\pm$ 0,9	17
Kontrolle Mikrosomen	36,9 $\pm$ 4,5	95,1 $\pm$ 8,6	58,2 $\pm$ 5,0	15
Methylthiouracil	36,0 $\pm$ 3,1	99,3 $\pm$ 9,2	63,3 $\pm$ 6,3	15
Kontrolle Synaptosomen	7,4 $\pm$ 1,5	24,9 $\pm$ 2,9	17,5 $\pm$ 2,4	15
Thyroxin	9,7 $\pm$ 1,8	32,4 $\pm$ 3,4	22,7 $\pm$ 2,1	15
Kontrolle Mikrosomen	23,6 $\pm$ 1,6	49,7 $\pm$ 4,1	26,1 $\pm$ 3,1	26
Thyroxin	23,6 $\pm$ 2,9	47,0 $\pm$ 3,6	23,4 $\pm$ 2,7	25

Behandlung mit Thyroxin

Im Serum der mit Thyroxin behandelten Ratten blieb die Na-Konzentration konstant, die Konzentration von K, Mg und Zn stiegen an (Tab. 1). Der Wasseranteil am Gewicht des Hirngewebes war nach der Gabe von Thyroxin unverändert. Der Na-Gehalt nahm mit Ausnahme des Großhirns in allen Hirnabschnitten signifikant ab. Die berechnete „intrazelluläre“ Na-Konzentration erschien ebenfalls geringer. Der Gehalt von K und Mg war in allen Hirnabschnitten unverändert. Der Zn-Gehalt nahm im Großhirn und vorderen Stammhirn ab.

In der Synaptosomen-Fraktion der mit Thyroxin behandelten Ratten waren die Aktivitäten der Mg-ATPase und der Na, K-ATPase nur insignifikant erhöht. In der mikrosomalen Fraktion war die Aktivität der Na, K-ATPase nicht signifikant verringert.

Als morphologische Veränderungen sind im Großhirn nach der Behandlung mit Thyroxin stellenweise geringe Aufblähungen der Säcke und Schläuche des endoplasmatischen Retikulums zu beobachten, die im Perikaryon der Nervenzellen jedoch immer fehlten (Abb. 2d). Im Kleinhirn fiel nur stellenweise eine geringe Aufblähung der aggregierten endoplasmatischen Retikulum-Säcke auf (Abb. 2d). Im Unterschied zur Adrenalectomie wurde nach der Behandlung mit Thyroxin die Aggregation des endoplasmatischen Retikulums nicht aufgehoben.

Diskussion

Aus der vorliegenden Arbeit ergibt sich, daß der Elektrolytgehalt im Hirngewebe von erwachsenen Ratten hormonell reguliert werden kann. Die einzelnen Hirnabschnitte verhielten sich bei Änderungen ihres Elektrolytgehaltes im allgemeinen qualitativ gleich. Die quantitativen Unterschiede zwischen den Hirnteilen waren in der Regel unbedeutend. Es ist daher möglich, die an einzelnen Hirnabschnitten erhobenen Befunde auf das Hirn als Ganzes zu übertragen.

Das von uns in verschiedenen Hirnabschnitten beschriebene Verhalten von Na und K bestätigt die Befunde von TIMIRAS und Mitarbeitern (5) und VALCANA und TIMIRAS (38). Diese Autoren untersuchten allerdings nur die Hirnrinde bzw. Hirnrinde und Kleinhirn. Im Hirngewebe von jugendlichen hypothyreoten Ratten waren die gemessenen Änderungen des Elektrolytgehaltes ähnlich gering (38) wie in unseren Versuchen. Im Hirn wird also die steady state Verteilung der Elektrolyte durch die untersuchten Hormone wenig beeinflusst im Gegensatz zur Leber, in der nach Adrenalectomie eine größere Zunahme der „intrazellulären“ Na-Konzentration beobachtet wurde.

Die von Hormonen verursachten Änderungen des cerebralen Mg-Gehaltes betrugen maximal 10%. Im Muskel und in der Leber waren die Veränderungen des Mg-Gehaltes gleich groß. Nach Adrenalectomie wurde in diesen Organen ebenfalls eine Zunahme, nach Behandlung mit Methylthiouracil eine Abnahme des Mg-Gehaltes gemessen (22).

Der cerebrale Zn-Gehalt war im Großhirn und im vorderen Stammhirn nach Behandlung mit Methylthiouracil bzw. Thyroxin nur wenig aber signifikant vermindert. Vielleicht war die Auftrennung des Hirns zu grob, um stärkere Änderungen des bevorzugt im Hippocampus lokalisierten Zn (40, 41) zu erfassen. In dieser Region kommt das Zn im Cytoplasma der Endköpfchen von Moosfasern vor (42), die in synaptischen Kontakt mit den Dendriten der Pyramidenzellen des Hippocampus stehen. Das Zn im Gehirn verhielt sich also im Unterschied zum Zn der Leber und Niere ähnlich wie das Zn z. B. des Muskels, welches nur einen langsamen ⁶⁵Zn-turnover aufweist und durch Hormone ebenfalls wenig beeinflusst wird (43).

Mit der Zunahme des cerebralen Na-Gehaltes gingen morphologische Änderungen des endoplasmatischen Retikulums innerhalb der Riesenzell-Dendriten des Großhirns und der Purkinje-Zell-Dendriten des Kleinhirns einher. Vergleichbare morphologische Befunde im Hirn wurden bisher nicht beschrieben. Bei Ratten, die neonatal mit ¹³¹I thyreoidektomiert wurden, war neben einer „Hypoplasie“ des Neuropils die Zahl der synaptischen Verbindungen eines Neurons in der Großhirnrinde (44, 45) und der Kleinhirnrinde (46) vermindert. Außerdem wurde in der Sehinde das Auftreten von membranösen Körpern beschrieben (45). Im Skelettmuskel wurde nach der Behandlung von Ratten mit Methylthiouracil analog zu den Veränderungen des Großhirns eine Vergrößerung des endoplasmatischen Retikulums beobachtet, und zwar vor allem des transversalen Tubulussystems der roten Muskelfasern. Die Erweiterung des transversalen Tubulussystems trat nicht bei thyreoidektomierten Ratten auf und war daher durch Thiouracil selbst verursacht (47).

Die Aufblähung und der Zerfall des endoplasmatischen Retikulums innerhalb der Dendriten wurde bei Kontrolltieren nicht beobachtet. Hypoxie oder ein Artefakt durch die Fixierung scheiden daher als mögliche Ursachen aus. Die Perfusionsfixierung mit hypertoner Lösung bewirkt eher eine Volumenvermehrung des Cytoplasmas auf Kosten der extra- und intrazellulären Hohlräume. — Wie bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen des Kleinhirns von SIEGSMUND (48) gefunden wurde, enthielten die Purkinje-Zell-Dendriten innerhalb der Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums große Mengen Na. Im transversalen Tubulussystem des Skelettmuskels wurde ebenfalls Na in hoher Konzentration mit Pyroantimonat nachgewiesen (49). Wenn der Anstieg des cerebralen Na-Gehaltes durch eine Zunahme des im endoplasmatischen Retikulum der Dendriten gelegenen Na hervorgerufen wird, dann sollte auch vermehrt Wasser in diese Hohlräume einströmen. Eine mögliche Ursache für die Aufweitung des endoplasmatischen Retikulums wäre daher die Einlagerung von Flüssigkeit.

Eine andere Ursache für die Erweiterung und den Zerfall des endoplasmatischen Retikulums könnte eine veränderte Biosynthese von Proteinen sein, denn im Hirn

hängt der aktive Transport von Aminosäuren und ihr Einbau in Protein von der extrazellulären Na-Konzentration ab (50, 51). Bei einigen Aminosäuren, z. B. bei Glycin, ist die Einbaurate auch von der extrazellulären K-Konzentration abhängig (51). Schon geringfügige Änderungen der intrazellulären Na-K-Konzentration können, wie bei verschiedenen Zellen beschrieben wurde (52, 53), die Proteinbiosynthese beeinflussen. Außerdem vermögen Trijodthyronin (54) und wahrscheinlich auch Steroidhormone im Hirn ähnlich wie in der Leber und Niere (55, 56, 24) die Proteinbiosynthese direkt zu beeinflussen. Dadurch würden Abweichungen von einer strengen Korrelation der Schwellung des endoplasmatischen Retikulums und den Änderungen des cerebralen Na- und K-Gehaltes erklärbar. Die Halbwertszeit der Proteine des endoplasmatischen Retikulums, die bei der Leber 75–113 Std. beträgt (57) und im Hirn in der gleichen Größenordnung liegen könnte, wäre im Vergleich zu den Experimenten mit chronischem Mangel oder Überschuß an Hormonen genügend „kurz“, um infolge einer Beeinflussung der Proteinbiosynthese zu morphologisch erkennbaren Strukturänderungen zu führen.

Die beobachtete Ausweitung des endoplasmatischen Retikulums stellt eine Vergrößerung des extrazytoplasmatischen Raumes dar, der jedoch innerhalb der Zelle liegt. Ob dieser Raum, ähnlich wie das endoplasmatische Retikulum im Skelettmuskel Saccharose oder Inulin aufnehmen kann und dann als „extrazellulärer Raum“ erscheint, ist unbekannt. In der Leber, in der das endoplasmatische Retikulum im Unterschied zum transversalen Tubulussystem des Muskels keine permanent offene Verbindung zum extrazellulären Flüssigkeitsraum hat, fanden GOECKE und Mitarbeiter (58) eine Korrelation zwischen Na-Gehalt und Saccharose-Raum dieses Organs. Ob der nach Adrenalectomie und Behandlung mit Methylthiouracil im Hirn erhöhte Na-Gehalt den intracytoplasmatischen und/oder den extracytoplasmatischen Raum betrifft, bleibt offen.

Eine Zunahme des cerebralen intrazytoplasmatischen Na-Gehaltes, die auch in morphologisch nicht deutlich veränderten Hirnabschnitten erfolgt, könnte auf einer Verminderung des aktiven Na-Transportes beruhen. Der aktive Transport von Na und K und die Na, K-ATPase-Reaktion haben eine Reihe von gemeinsamen Eigenschaften. Dieses Enzymsystem gilt als die „Basis“ des aktiven Kationentransportes (27, 28). Im Hirngewebe wurde die Na, K-ATPase mit Hilfe der Mikrodissektionstechnik in den Membranen der Neurone (59), nach Homogenisation und Zentrifugation in den Mikrosomen (60), den „nerve endings“ und den Synaptosomen (61–63) nachgewiesen. In der Glia und den Kapillaren war die Na, K-ATPase-Aktivität gering (59). Eine Beziehung zwischen Na, K-ATPase-Aktivität und dem Na-K-Transport konnte auch im Hirn festgestellt werden. Bei jungen, noch stark wachsenden Ratten bestand eine enge Korrelation zwischen dem Auftreten der elektrischen Spontanaktivität und dem Anstieg der Na, K-ATPase-Aktivität der „nerve endings“ (63).

Außerdem ging der mit zunehmenden Alter ansteigende K-Gehalt und abfallende Na-Gehalt parallel mit einer ansteigenden Aktivität der mikrosomalen Na, K-ATPase (38).

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß bei adrenalectomierten Ratten die Na, K-ATPase in den Mikrosomen abfiel und in den Synaptosomen anstieg. Der Befund von GALLAGHER und GLASER (15), daß im Hirn von adrenalectomierten Ratten die Na, K-ATPase-Aktivität unvermindert ist, können wir nicht bestätigen. Die genannten Autoren, die ihren Befund aus dem Mittelwert von nur drei Messungen herleiten, haben die mikrosomale ATPase nicht mit Desoxycholat behandelt. Es ist möglich, daß derartige Aktivitätsunterschiede der Na, K-ATPase erst nach der Behandlung mit Detergenzien oder NaJ auftreten. Ein gegensinniges Verhalten der Na, K-ATPase wurde auch in subzellulären Fraktionen der Rattenniere beobachtet: in der Zellmembranfraktion nahm die Na, K-ATPase-Aktivität zu, während sie in der mikrosomalen Fraktion absank (64). Bei adrenalectomierten Ratten ließe sich also die Zunahme des Na-Gehaltes im Hirn mit einer Abnahme der mikrosomalen Na, K-ATPase-Aktivität korrelieren. Das gegensinnige Verhalten der Na, K-ATPase in der Synaptosomen-Fraktion bleibt unklar.

Bei den chronisch mit Methylthiouracil behandelten Ratten fanden wir die Na, K-ATPase in den Synaptosomen und Mikrosomen nicht signifikant verändert. In der Großhirnrinde von jungen hypothyreoten Ratten wurde dagegen eine verminderte Na, K-ATPase-Aktivität beobachtet (38). ARGIZ und Mitarbeiter (65) fanden diese Aktivitätsabnahme allerdings nur im Kleinhirn, nicht in der Großhirnrinde. Die von unseren Befunden abweichenden Ergebnisse könnten einmal darauf beruhen, daß junge Ratten neonatal thyreoidektomiert wurden, während wir erwachsene Ratten chronisch mit Methylthiouracil behandelten. Zum anderen wurden die Aktivitätsänderungen nur in bestimmten Hirnabschnitten gefunden. In unseren Experimenten aber wurden die subzellulären Fraktionen aus dem Ganzhirn gewonnen, weil im Elektrolytstoffwechsel einzelner Hirnabschnitte keine wesentlichen Unterschiede erkennbar waren.

Nach Methylthiouracil- und Thyroxin-Behandlung konnten wir keine Korrelation zwischen cerebralen Na-Gehalt und Na, K-ATPase-Aktivität nachweisen. Es ist dabei zu bedenken, daß in der Großhirnrinde nur 60% der Zellmembranen von Neuronen stammen; am Gesamthirn ist dieser Prozentsatz noch geringer (66). Wenn die hormonell bedingten Änderungen des Elektrolytgehaltes und der ATPase-Aktivität an den morphologisch veränderten Zellen auftreten, wäre nur ein kleiner Teil aller Neurone betroffen, nämlich die Pyramidenzellen des Großhirns und die Purkinje-Zellen des Kleinhirns. Die Synaptosomen- und Mikrosomenfraktion würde sich dann überwiegend aus hormonell nicht (sichtbar) beeinflussten Neuronen herleiten.

Darüber hinaus könnte aber eine fehlende Beziehung zwischen Na-Gehalt und Na, K-ATPase auch dadurch

verursacht sein, daß im Hirn ähnlich wie bei Erythrocyten (67) und an Nierenschnitten (68) neben der Na, K-ATPase, die am Transport von Na im Austausch gegen K beteiligt sein soll, noch ein weiteres, durch Ethacryn-

säure hemmbares Transportsystem existiert, das Na wahrscheinlich ohne Beteiligung der Na, K-ATPase transportiert.

Literatur

1. ENGEL, G. L. und S. G. MARGOLIN, Arch. Neurol. Psychiatr. 45, 881 (1941). — ENGEL, G. L. und S. G. MARGOLIN, Arch. Int. Med. Chicago 70, 236 (1942). — 3. CLEGHORN, R. A., Canad. Med. Ass. J. 65, 449 (1951). — 4. CLEGHORN, R. A., J. Clin. Endocr. Springfield 13, 1291 (1953). — 5. TIMIRAS, P. S., D. M. WOODBURY und L. S. GOODMAN, J. Pharmacol. Exper. Therap. Baltimore 112, 80 (1954). — 6. WOODBURY, D. M., in: Recent Progress in Hormone Research, Academic Press Inc., New York 10, 65 (1954). — 7. BERGEN, J. R. und H. HOAGLAND, Amer. J. Physiol. 164, 23 (1951). — 8. FELDMAN, S., Arch. Neurol. 7, 460 (1962). — 9. TIMIRAS, P. S. und D. M. WOODBURY, Endocrinology 58, 181 (1956). — 10. BRADLEY, P. B., J. T. EAYRS und K. SCHMALBACH, Electroencephalogr. 12, 467 (1960). — 11. BRADLEY, P. B., J. T. EAYRS und K. SCHMALBACH, Electroencephalogr. 13, 577 (1961). — 12. SHORT, M. J., M. D. WILSON und J. P. GILLS, Electroencephalogr. 25, 123 (1968). — 13. OSHIMA, K. und A. GORBMAN, Gen. Comp. Endocrinol. 7, 398 (1966). — 14. DAVENPORT, V. D., Amer. J. Physiol. 156, 322 (1949). — 15. GALLAGHER, B. B. und G. H. GLASER, J. Neurochem. 15, 525 (1968). — 16. STERN, T. N., V. V. COLE, A. C. BASS und R. R. OVERMANN, Amer. J. Physiol. 164, 437 (1951). — 17. CRABBE, J., J. Clin. Invest. 40, 2103 (1961). — 18. PORTER, G. A. und I. S. EDELMAN, J. Clin. Invest. 43, 611 (1964). — 19. SHARP, G. W. und A. LEAF, Nature London 202, 1185 (1964). — 20. HIERHOLZER, K., M. WIEDERHOLT, H. HOLZGREVE, G. GIEBISCH, R. M. KLOSE und E. E. WINDHAGER, Pflügers Arch. Physiol. 285, 193 (1965). — 21. DULCE, H. J. und Th. GÜNTHER, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Path. 238, 368 (1960). — 22. GÜNTHER, Th. und Ch. ALTER, diese Z. 5, 67 (1967). — 23. PORTER, G. A., R. BOGOROCH und J. S. EDELMAN, Proc. nat. Acad. Sci. (Wash) 52, 1326 (1964). — 24. FIMOIGNARI, G. M., G. A. PORTER und J. S. EDELMAN, Biochim. biophys. Acta Amsterdam 135, 89 (1967). — 25. KIRSTEN, E., R. KIRSTEN, A. LEAF und G. W. SHARP, Pflügers Arch. Physiol. 300, 213 (1968). — 26. FANESTIL, D. D., G. A. PORTER und I. S. EDELMAN, Biochim. biophys. Acta Amsterdam 135, 74 (1967). — 27. SKOU, J. C., Physiol. Rev. Baltimore 45, 596 (1965). — 28. BONTING, S. L., in: Membranes and Transport, ed. E. E. BITTAR, Wiley Interscience, London vol. 1, p. 258 (1970). — 29. KATZ, A. I. und F. H. EPSTEIN, J. Clin. Invest. 46, 1999 (1967). — 30. JØRGENSEN, P. L., Biochim. biophys. Acta Amsterdam 151, 212 (1968). — 31. ORANGE, M. und H. C. RHEIN, J. biol. Chemistry 189, 379 (1951). — 32. HAAS, Th., G. LEHNERT und K. H. SCHATTER, diese Z. 5, 218 (1967). — 33. REED, D. J. und D. M. WOODBURY, J. Physiol. 169, 816 (1963). — 34. WOODWARD, D. L., D. J. REED und D. M. WOODBURY, Amer. J. Physiol. 212, 367 (1967). — 35. EBEL, H., N. G. DE SANTO und K. HIERHOLZER, Pflügers Arch. Physiol. 1971, im Druck. — 36. FISKE, C. H. und Y. SUBBAROW, J. biol. Chemistry 66, 375 (1925). — 37. LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR und R. J. RANDALL, J. biol. Chemistry 193, 265 (1951). — 38. VALCANA, T. und P. S. TIMIRAS, J. Neurochem. 16, 935 (1969). — 39. LOSERT, W., C. SENFT und G. SENFT, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Path. 248, 450 (1964). — 40. OTSUKA, N. und M. KAWAMATO, Histochemie 6, 267 (1966). — 41. HU, K. H. und R. L. FRIEDE, J. Neurochem. 15, 677 (1968). — 42. HAUG, F. M. S., Histochemie 8, 355 (1967). — 43. F. DORN und Th. GÜNTHER, diese Z. 8, 618 (1970). — 44. EAYRS, J. T., Acta anat. Basel 25, 60 (1955). — 45. CRAGG, B. G., Brain Res. 18, 297 (1970). — 46. LE GRAND, Compt. rend. Acad. sc. Paris 261, 544 (1965). — 47. GÜNTHER, T., C. GOECKE und J. WOLFF, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Path. 258, 280 (1967). — 48. SIEGESMUND, K. A., J. Anat. London 105, 403 (1969). — 49. ZADUNAISKY, J. A., J. Cell Biol. 37, C 11 (1966). — 50. LAHIRI, S. und A. LAJTHY, J. Neurochem. 11, 77 (1964). — 51. MASE, K., Y. TAKAHASHI und K. OGATA, J. Neurochem. 9, 281 (1962). — 52. LUBIN, M., Nature London 213, 451 (1967). — 53. MEEKER, G. L., Exptl. Cell Res. 63, 165 (1970). — 54. GEEL, S. E., Th. VALCANA und P. S. TIMIRAS, Brain Res. 4, 143 (1967). — 55. KENNEY, F. T., J. biol. Chemistry 237, 3495 (1962). — 56. SEGAL, H. S. und Y. S. KIM, J. Cell. Comp. Physiol. 66, 11 (1965). — 57. OMURA, T., P. SIEKEVITZ und G. E. PALADE, J. biol. Chemistry 242, 2389 (1967). — 58. GOECKE, C., Th. GÜNTHER, H. J. DULCE und H. J. MERKER, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Path. 256, 79 (1967). — 59. CUMMINS, J. und H. HYDÉN, Biochim. biophys. Acta Amsterdam 60, 271 (1962). — 60. JÄRNEFELDT, J. Biochim. biophys. Acta Amsterdam 59, 655 (1962). — 61. ALBERS, R. W., G. R. DE LORES ARNAIZ und E. DE ROBERTIS, Proc. Nat. Acad. sci. USA 53, 557 (1965). — 62. CORMAN, C., H. R. MAHLER und N. G. ANDERSON, Biochim. biophys. Acta 163, 272 (1968). — 63. ABDEL-LATIF, A. A., J. BRODY und H. RAMAHI, J. Neurochem. 14, 1133 (1967). — 64. DE SANTO, N. G., H. EBEL und K. HIERHOLZER, Pflügers Arch. Physiol. 1971, im Druck. — 65. ARGIZ, C. A. G., J. M. PASQUINI, B. KAPLUN und C. J. GOMEZ, Brain Res. 6, 635 (1967). — 66. WOLFF, J., 6. Internat. Congress of Neuropathology, Paris 1970. — 67. HOFFMAN, J. F. und F. M. KREGENOW, Ann. N. Y. Acad. Sci. 137, 566 (1966). — 68. PROVERBIO, F., J. W. L. ROBINSON und G. WHITTEMBURY, Biochim. biophys. Acta. Amsterdam 211, 327 (1970).

Dr. H. Ebel
Institut für Klinische Physiologie
Klinikum Steglitz
1. Berlin 45, Hindenburgdamm 30