

# Untersuchungen über die regionale Ionenverteilung im menschlichen Gehirn\*

4. Mitt.: Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen,  
Kupfer und Phosphor

Von

**A. Musil, H. Lechner, O. Wawschinek, W. Beyer, H. Wielinger  
und H. H. Tagger**

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der  
Karl-Franzens-Universität und dem Neurohistologischen Laboratorium  
der Universitätsklinik Graz

(Eingegangen am 24. April 1964)

Die in früheren Publikationen beschriebene Arbeits- und Präparationsmethodik wird verbessert und teilweise vereinfacht. Es wird auf jegliche Präparation der Gehirnsubstanz verzichtet.

In einer aus einem Gehirnzentrum hergestellten Stammlösung werden die Elemente Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu und P (als Anion) quantitativ bestimmt. Eine Auswahl aus vielen Analysenwerten wird in tabellarischer Form wiedergegeben. Damit ist es möglich, die in den Zentren eines Gehirnes bestimmten Ionen zu vergleichen.

The procedure previously described of investigating the regional distribution of cations in the human brain has been improved and simplified. Any chemical pretreatment of the brain matter has been dispensed with. Sodium, potassium, calcium, magnesium, iron copper and phosphorus (as phosphate) are determined quantitatively in stock solutions prepared from each brain centre. Representative data have been tabulated, thus making possible a comparison of the ions estimated in different centres of one brain.

## Methodik

Das frische Gehirn wurde nach der Entfernung der beiden weichen Hirnhäute (Leptomeninx) zweimal mit destilliertem Wasser abgespült und anschließend die einzelnen Zentren herauspräpariert. Die Bezeich-

\* Herrn Prof. Dr. H. Bertha † zum Gedächtnis.

nung der Zentren der Gehirnrinde wurden nach *C. v. Economo*<sup>1</sup> durchgeführt. Die vorliegende Veröffentlichung stellt eine Weiterführung und Verbesserung früherer Arbeiten dar<sup>2-4</sup>.

Die einzelnen Zentren wurden bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und wiesen danach (in ca. einer Woche) ein Trockengewicht von 60 bis 150 mg auf. (Alle Angaben in der Tab. beziehen sich auf 100 mg Trocken-Substanz.) Die trockene Probe wurde in einen Platintiegel eingewogen, mit 5 Tropfen rauch. konz.  $\text{HNO}_3$  p. A. befeuchtet, mit der Bunsenflamme sehr vorsichtig zum Vertreiben der nitrosen Gase erwärmt, im Muffelofen auf 650° erhitzt und 4 bis 5 Stdn. auf dieser Temp. gehalten. Der anorganische Rückstand wird mit 1 ml verd.  $\text{HCl}$  (1:1) in Lösung gebracht und mit destill. Wasser in ein 10 ml-Kölbchen gespült. Unter Anwendung der unten beschriebenen Analysenmethoden ist es uns gelungen, in *einem* Zentrum Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu und P quantitativ zu bestimmen.

#### Bestimmung von Na und K

Die Bestimmung von Na und K wurde flammenphotometrisch durchgeführt. 2 ml der salzauren Stammlösung wurden auf 10 ml verdünnt. Bei dieser Verdünnung ist die Konzentration der beiden Kationen noch so groß, daß sie einwandfrei bestimmt werden können, dagegen ist die Salzsäurekonzentration schon so gering, daß sie keinen Störeinfluß mehr ausübt. Wir arbeiteten nach der Einschachtelungsmethode, um die bei der Flammenphotometrie auftretenden Fehler (z. B. Schwankung des 100er Punktes) weitgehend auszuschalten. Zur Messung diente das Spektralphotometer PMQ II mit Flammenphotometerzusatz der Firma Zeiss. Für die Bestimmung des Na wurde die Linie bei 589 nm und für K die bei 767 nm herangezogen. Als Flamme wurde die Knallgasflamme verwendet. Die Betriebsdrücke betrugen für  $\text{O}_2$  0,3 kg pro  $\text{cm}^2$  und für  $\text{H}_2$  222 mm Wassersäule.

#### Bestimmung von Ca und Mg

Diese beiden Elemente wurden titrimetrisch mit 0,01 m *EDTA* unter Verwendung des Mikrotitrationssatzes der Firma Beckman bestimmt.

Die Bestimmung von Ca wurde mit 0,5 ml der salzauren Stammlösung durchgeführt<sup>5</sup>. Die salzaure Probelösung wurde mit 6 Tropfen 50proz. KOH, 3 Tropfen einer 0,1 m wäßrigen Triäthanolaminlösung (zur Maskierung der dreiwertigen Elemente, vor allem Fe) und einigen Kristallen KCN (zur Maskierung von Cu), versetzt. Nach Verdünnung mit etwas destill. Wasser wurden drei Tropfen Indikatorlösung zugesetzt und von Rotviolett auf die rein blaue Endpunktsfarbe titriert. Als Indikatorlösung diente eine einmolare, methanol. Calconcarbonsäurelösung.

<sup>1</sup> *C. v. Economo*, Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen, Springer-Verlag, 1925.

<sup>2</sup> *H. Bertha, A. Musil, W. Haas und O. Wawschinek*, Mh. Chem. **93**, 119 (1962).

<sup>3</sup> *A. Musil, H. Bertha, W. Haas und O. Wawschinek*, Mh. Chem. **93**, 536 (1962).

<sup>4</sup> *H. Bertha, A. Musil, W. Haas und W. Beyer*, Mh. Chem. **93**, 882 (1962).

<sup>5</sup> *I. Patton und W. Reeder*, Anal. Chem. **28**, 1026 (1956).

Zur Bestimmung von Mg mußte eine Summentitration vorgenommen und der Wert für Ca abgezogen werden. Es wurde auch hier 0,5 ml der salzauren Stammlösung vorgelegt, mit Triäthanolamin und KCN die störenden Metalle maskiert. Nach Zusatz von 6 Tropfen Puffer pH 10 und etwas Indikator wurde sofort auf die rein blaue Endpunkttsfarbe titriert. Als Indikator diente Eriochromschwarz T—NaCl in einer 1:200fachen Verreibung.

#### Spektrophotometrische Bestimmung von Cu

Cu wurde nach der Methode von *W. Haas* und *P. Winterstein*<sup>6</sup> spektrophotometrisch mit dem Di-Ammoniumsalz der Carboxymethyldithiocarbamsäure bestimmt. Es wurde genauso verfahren, wie in unserer 2. Mitt.<sup>3</sup>, nur daß wir statt 2 ml 3 ml der Stammlösung verwendet haben.

#### Spektrophotometrische Bestimmung von Fe

Da, wie weiter unten angeführt, im Gehirn große Mengen P vorhanden sind, sahen wir uns, um die Eisenbestimmung störungsfrei und mit größter Genauigkeit zu gestalten, gezwungen, ein Extraktionsverfahren anzuwenden. Das Eisen wurde mit  $\alpha$ -Picolinsäurethioamid spektrophotometrisch bestimmt<sup>7</sup>. 2 ml der salzauren Stammlösung wurden in einem Mikroschütteltrichter mit 2 ml 12*n*-HCl (p. A.) und 2 ml Isobutylmethylketon<sup>8</sup> ca. 2 Min. heftig geschüttelt, die wäßrige salzaure Schicht abgetrennt, das Eisen mit ca. 3 ml destill. Wasser wieder aus dem Keton zurückgeschüttelt, die wäßrige Phase in ein 10ml-Kölbchen abgelassen und das Keton nochmals mit ca. 2 ml Wasser ausgeschüttelt. Zu den vereinigten Extrakten wird zur Reduktion des Eisens 1 ml einer frisch bereiteten 0,01*m*-Ascorbinsäurelösung gegeben und gut durchgemischt. Schließlich gibt man noch 1 ml Methanol, 1 ml der 0,05*m* methanol. Reagenslösung sowie 1 ml 25proz. NH<sub>3</sub> hinzu. Es entsteht ein blauer Eisen(II)-Reagenskomplex. Nach dem Auffüllen und kräftigen Umschütteln wurde nach 20 Min. bei einer Wellenlänge von 614 nm in einer 10,00mm-Küvette gemessen.

#### Bestimmung des Gesamtphosphors

Der Phosphatgehalt wurde kolorimetrisch nach der Methode von *Torsten Teorell*<sup>9</sup> bestimmt. Es wurde 1 ml der Stammlösung mit 1,5 ml 12,5*n*-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt und bis zur Bildung von SO<sub>3</sub>-Nebeln erhitzt. Nachher wurden 25 ml 0,4proz. Ammoniummolybdatlösung und 1 ml Aminonaphtholsulfonsäure (0,25proz. Lösung nach *Fiske—Subbarow*<sup>10</sup>) hinzugefügt. Die so behandelte Probe wurde in einen Maßkolben übergeführt. Nach 30 Min. wird die entstandene Blaufärbung bei 720 nm gemessen.

#### Diskussion der Ergebnisse

Durch die Bestimmung der genannten sieben Elemente in *einem* Gehirnzentrum war es erstmalig möglich, das Verhältnis dieser Elemente

<sup>6</sup> *W. Haas* und *P. Winterstein*, Mikrochim. Acta [Wien] **1961**, 787.

<sup>7</sup> *O. Wawschinek* und *K. Felice*, Mikrochim. Acta [Wien], im Druck.

<sup>8</sup> *W. Doll* und *H. Specker*, Z. analyt. Chem. **161**, 354 (1958).

<sup>9</sup> *Torsten Teorell*, Biochem. Z. **230**, 1 (1931).

<sup>10</sup> *C. H. Fiske* und *Y. Subbarow*, J. Biol. Chem. **66**, 375 (1925).

Tabelle 1. Analysenwerte,  $\mu\text{g}$  pro 100 mg Trockensubstanz

Gehirnzentrum	Fe	Cu	Ca	Mg	Na	K	P
FA $\gamma$	22,3	2,66	43,3	59,4	790	1290	1450
FCB <sub>m</sub>	17,6	2,6	53,7	66,3	890	1470	1480
IA <sub>1</sub>	16,2	4,2	87,0	80,0	1220	2000	1450
Thalamus	26,8	2,4	42,6	46,7	740	1390	1500
Olive	5,4	2,7	48,3	50,4	780	940	1410
Pons	2,5	2,2	36,9	52,7	690	900	1440
Putamen	42,8	4,8	57,1	81,0	670	1740	1400
Nucleus ruber	32,5	4,2	38,9	46,8	530	1040	1410
Nucleus niger	68,2	7,5	74,5	43,5	700	1230	1440
Nucleus caudatus	45,8	2,6	41,8	73,7	920	1580	1520
OC	25,8	3,2	41,7	55,5	770	1300	1480
PC	26,3	2,1	56,4	68,1	1010	1370	1440
PF	22,5	2,4	57,4	69,8	960	1500	1460
FC	17,8	3,8	75,7	61,4	1140	1720	1520
LA	17,8	2,8	46,2	59,6	740	1510	1530
LD	21,6	1,95	57,8	59,0	840	2010	1440
FD $\Delta$	18,1	3,9	67,6	97,5	1170	1690	1450

zueinander in allen Zentren *eines* Gehirnes festzulegen. Wie zu erwarten war, bestätigten sich die in den vorhergegangenen Mitteilungen angegebenen Einzelanalysenwerte der Kationen.

Auf Grund der vorliegenden Analysenwerte sind wir unserem Ziel, eine vollständige topochemische Gehirnkarte der Mengen- und Spurenelemente aufzustellen, wesentlich nähergekommen.

Es sei hier nochmals hervorgehoben, daß alle Untersuchungen an gesunden Gehirnen durchgeführt wurden.

Zukünftige Arbeiten werden sich mit allfällig altersmäßig und pathologisch bedingten Abweichungen des Gehaltes an Mengen- und Spurenelementen vom nunmehr festgelegten Standard zu beschäftigen haben.

Die von *F. Sundermann*<sup>11</sup> gefundene Zunahme des Eisengehaltes mit steigendem Lebensalter bestätigte sich bei etwa 1000 Einzelanalysen. Der Kupfergehalt zeigt keine merkliche Abhängigkeit vom Lebensalter und schwankt innerhalb der Zentren von 1—7  $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ . Die Natrium-, Kalium-, Calcium- und Magnesium-Werte schwanken stets erheblich. Der Gesamtphosphorgehalt ist im Durchschnitt konstant und beträgt bei dem in Tab. 1 angeführten Gehirn  $\sim 1500\text{ }\mu\text{g}/100\text{ mg}$ .

In Tab. 1 findet man die Analysenergebnisse einer Anzahl von Regionen, welche wir aus den 90 analysierten Zentren eines Gehirnes (weiblich, 28 Jahre) herausgegriffen haben.

<sup>11</sup> *A. Sundermann* und *G. Kempf*, *Z. Alternsforschung* **15**, Heft 2, 97 (1961).