

ABHANDLUNGEN DER SÄCHSISCHEN AKADEMIE
DER WISSENSCHAFTEN ZU LEIPZIG

Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse
Band 46 · Heft 5

MAX BÜRGER

DIE CHEMISCHE BIOMORPHOSE
DES MENSCHLICHEN GEHIRNS
IN IHREN BEZIEHUNGEN
ZU DEN PROTEOLIPOIDEN (PLP)



AKADEMIE - VERLAG · BERLIN

1959

ABHANDLUNGEN DER SÄCHSISCHEN AKADEMIE
DER WISSENSCHAFTEN ZU LEIPZIG

Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse

Band 46 · Heft 5

MAX BÜRGER

DIE CHEMISCHE BIOMORPHOSE
DES MENSCHLICHEN GEHIRNS
IN IHREN BEZIEHUNGEN
ZU DEN PROTEOLIPOIDEN (PLP)

Mit 12 Abbildungen und 21 Tabellen im Text



AKADEMIE - VERLAG · BERLIN

1959

Vorgelegt in der Sitzung vom 13. Oktober 1958
Manuskript eingeliefert am 21. November 1958
Druckfertig erklärt am 9. Juni 1959

Erschienen im Akademie-Verlag GmbH, Berlin W 1, Leipziger Str. 3-4
Copyright by Akademie-Verlag GmbH, Berlin
Alle Rechte vorbehalten
Lizenz-Nr. 202 · 100/675/59
Satz, Druck und Bindung: IV/2/14 · VEB Werkdruck Gräfenhainichen · 1071
Bestellnummer: 2025/46/5
Preis: DM 7,50
Printed in Germany
ES 17 C 3

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Einleitung | 5 |
| I. Der „Mehrstickstoff“ in den Lipoiden | 8 |
| II. Die chemische Biomorphose des Hirns der Höchstbetagten | 12 |
| III. Die Wasserausschüttelung des Gesamtlipoids nach FOLCH und die chemische Zusammensetzung der so gewonnenen 3 Schichten | 14 |
| IV. Silber- und Cadmiumfällungen in den Acetonfraktionen des Sedimentations- Fluffs | 22 |
| V. Verfestigungsversuche der Fluff-Schicht durch Silicatzusatz | 24 |
| VI. Acetonfraktionierung der Gesamtlipide des menschlichen Gehirns | 26 |
| VII. Zur Bestimmung des Grenztiters der Acetonfällungen | 26 |
| VIII. Zusammensetzung der so gewonnenen Fraktionen bezüglich ihres Phosphor- und Stickstoffgehalts | 28 |
| IX. Das Proteolipoid des Acetonlöslichen | 32 |
| X. Spektrophotometrie der Acetonfällungen | 33 |
| XI. Gewinnung der Proteolipide mit Hilfe der Gefriertrocknung | 41 |
| Zusammenfassung | 44 |

ABHANDLUNGEN DER SÄCHSISCHEN AKADEMIE
DER WISSENSCHAFTEN ZU LEIPZIG

Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse

Band 46 · Heft 5

MAX BÜRGER

**DIE CHEMISCHE BIOMORPHOSE
DES MENSCHLICHEN GEHIRNS
IN IHREN BEZIEHUNGEN
ZU DEN PROTEOLIPOIDEN (PLP)**

Mit 12 Abbildungen und 21 Tabellen im Text



AKADEMIE · VERLAG · BERLIN

1959

Vorgelegt in der Sitzung vom 13. Oktober 1958
Manuskript eingeliefert am 21. November 1958
Druckfertig erklärt am 9. Juni 1959

Erschienen im Akademie-Verlag GmbH, Berlin W 1, Leipziger Str. 3-4
Copyright by Akademie-Verlag GmbH, Berlin
Alle Rechte vorbehalten
Lizenz-Nr. 202 · 100/675/59
Satz, Druck und Bindung: IV/2/14 · VEB Werkdruck Gräfenhainichen · 1071
Bestellnummer: 2025/46/5
Preis: DM 7,50
Printed in Germany
ES 17 C 3

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Einleitung | 5 |
| I. Der „Mehrstickstoff“ in den Lipoiden | 8 |
| II. Die chemische Biomorphose des Hirns der Höchstbetagten | 12 |
| III. Die Wasserausschüttelung des Gesamtlipoids nach FOLCH und die chemische Zusammensetzung der so gewonnenen 3 Schichten | 14 |
| IV. Silber- und Cadmiumfällungen in den Acetonfraktionen des Sedimentations- Fluffs | 22 |
| V. Verfestigungsversuche der Fluff-Schicht durch Silicatzusatz | 24 |
| VI. Acetonfraktionierung der Gesamtlipoide des menschlichen Gehirns | 26 |
| VII. Zur Bestimmung des Grenztiters der Acetonfällungen | 26 |
| VIII. Zusammensetzung der so gewonnenen Fraktionen bezüglich ihres Phosphor- und Stickstoffgehalts | 28 |
| IX. Das Proteolipoid des Acetonlöslichen | 32 |
| X. Spektrophotometrie der Acetonfällungen | 33 |
| XI. Gewinnung der Proteolipoide mit Hilfe der Gefriertrocknung | 41 |
| Zusammenfassung | 44 |



Einleitung

In allen Kulturstaaten hat sich in den letzten Dezennien eine *Umschichtung der Bevölkerung* zugunsten der obersten Altersklassen vollzogen. Auf dem Gebiete der Bundesrepublik z. B. hat sich der Anteil der über 60 Jahre Alten von 1900 bis 1950 *verdoppelt*, d. h., er ist von 7% auf 14% gestiegen. Man hat berechnet, daß der Anteil der Alten 1975 etwa 20%, d. h. $\frac{1}{5}$ der Bevölkerung ausmachen würde. Somit ist die sogenannte „Gerontologie“ zu einem Hauptproblem der sozialen Wissenschaften geworden und das Interesse an den Leistungen der höheren Altersstufen erheblich gewachsen. Die Umschichtung der Bevölkerung in allen Kulturstaaten hat den Soziologen POLLOCK¹⁾ veranlaßt, darauf hinzuweisen, daß nach amerikanischen Berechnungen der Anteil der über 60 Jahre Alten sich auf 25% aller Wahlberechtigten zubewege. Da aber die alte Generation sich viel stärker an den Wahlen beteilige als die Jüngeren, wird ihr mit der Zeit ein entscheidendes Gewicht im Parlament zufallen. Diese und andere Überlegungen zeigen, wie wichtig das Problem der Gerontologie in soziologischer Hinsicht geworden ist, und daß es notwendig ist, über die *Restleistungsfähigkeit* der Alten auch auf geistigem Gebiet klare Vorstellungen zu schaffen.

Bei meinen Bemühungen, die physiologischen Alterswandlungen des menschlichen Gehirns – *seine Biomorphose* – mit chemischen Methoden nachzuweisen, leitete mich die Vorstellung, daß sich, falls sich das „*Schaltwerk der Gedanken*“ im Laufe des Lebens chemisch nachweisbar ändert, auch die *Funktionen* des Gehirns ändern müssen. Diese Tatsache ist z. B. durch die mit dem Alter sich wandelnden Leistungen des Gedächtnisses erwiesen, über die mein Mitarbeiter FEUDELL²⁾ berichtet hat. Im Gegensatz dazu scheint das Buch von Paul HERRE³⁾ „Schöpferisches Alter“ denen recht zu geben, welche meinen, die geistigen Leistungen könnten im hohen Alter noch zunehmen.

Die *chemische Biomorphose* des Gehirns bemühe ich mich aus dem Grunde zu sichern, weil die *histologischen* Studien zur Frage der physiologischen Altersveränderungen des Gehirns zu keiner klaren Grenzziehung zwischen Physiologie und Pathologie führten.

Nach Meinung vieler Ärzte und Biologen soll das menschliche Gehirn das *einzigste Organ* sein, das den allgemeinen Alterungsprozessen der Organe und Gewebe, die schon sehr frühzeitig im 1. und 2. Dezennium einsetzen und die ich daher *Biomorphose* und nicht *Gerontologie* nenne, nicht unterliegt. Diese irrtümlichen Meinungen sind wahrscheinlich auf Grund der falschen Annahme entstanden, daß die *Ganglienzellen* während des ganzen Lebens *Zellkonstanz* bewahren. Die *histologischen* Befunde von den Alterungsprozessen am menschlichen Gehirn, wie sie von SPATZ⁴⁾ und C. und O. VOGT⁵⁾ erhoben wurden, hat WÜNSCHER⁶⁾, ein Schüler des Ehepaars VOGT, nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse folgendermaßen zusammengefaßt: „Das anatomische Substrat des *normalen* wie des *krankhaften Senlums* ist der *Untergang* des nervösen Parenchyms, ohne daß eine bestimmtes *histologisches Einzelmerkmal* des alten Gehirns bei der großen Variabilität im Auftreten und

1) POLLOCK, F., Der alte Mensch in unserer Zeit. Vortragsreihe des Süddeutsch. Rundfunks, Alfred Kröner Verlag, Stuttgart 1958, S. 111.

2) FEUDELL, P., Z. Altersforsch. 11, 23 (1957).

3) HERRE, P., Schöpferisches Alter. Hase & Koehler Verlag, Leipzig 1939.

4) SPATZ, H., Z. Neur. 77, 261 (1922). Ders., 78, 641 (1922).

5) VOGT, C. u. O., J. Psychol. u. Neur. 50, 422 (1942).

6) WÜNSCHER, W., Z. Altersforsch. 11, 60 (1957/58).

Ausbildungsgrad der einzelnen Veränderungen als *das* histologische Substrat bezeichnet werden kann.“ Gefunden werden Nervenzellausfälle, die auf eine *Kapillarfibrose* zurückgeführt werden, die sich in einer geringen bindegewebigen *Verdickung* der Wandungen von „Prä- und Postkapillaren“ äußert.

Solche Verdickungen an den Grundhäutchen der Kapillaren mit zunehmendem Alter sind neuerdings auch von NORDMANN¹⁾ und LANG²⁾ beschrieben worden.

Daß auch mit *histologischen* Methoden Zeichen am tierischen Gehirn gefunden werden können, zeigte PFLUGFELDER³⁾ an den PURKINJESCHEN Zellen des Kückens in ihren Beziehungen zum Schlüpfakt.

Bis kurz vor dem Ausschlüpfen, das durch das Aufpicken der Eischale ermöglicht wird, treten *tote* PURKINJESCHE Zellen nur in geringer Zahl auf. Ihre Zahl nimmt während des Piekens sozusagen im anstrengenden „Kampf um die Freiheit“ außerordentlich stark zu, während bei künstlicher Eröffnung der Eischale die Zahl der toten PURKINJESCHEN Zellen relativ gering bleibt. Der Autor folgert daraus, daß die Anstrengungen des Schlüpfens und der dadurch bedingte O₂-Mangel das Absterben der Ganglienzellen verursachten. Den praktischen Arzt erinnert dieses Ereignis an das SHEEHAN-Syndrom, das nach großem Blutverlust in Zusammenhang mit der Geburt eintritt und auf eine allgemeine schockbedingte Zirkulationsstörung mit besonders schweren Durchblutungsstörungen des Hypophysenvorderlappens zurückgeführt wird.

Während es sich hier um *biomorphotische Wandlungen* des Gehirns in der *Jugend* handelt, findet umgekehrt das Ehepaar VOGT⁴⁾ im Gehirn des geistig rüstigen Greises vermehrt auftretende *Kernpyknosen*, die von den Autoren auf eine *gesteigerte Kernaktivität* in Form eines vermehrten Einbaus von *Ribonucleoproteiden* zurückgeführt wird. Diese Ribonucleoproteide seien für eine gesteigerte Zelleistung kennzeichnend und erforderlich. Es könne sich hierbei um Versuche handeln, dem Altern mit seiner Abnahme der Leistungsfähigkeit der Nervenzelle entgegenzuwirken.

Auch *histochemische* Untersuchungen über Eisengehalt und Verteilung im menschlichen Gehirn von SPATZ⁵⁾ und VOGT⁴⁾ haben gezeigt, daß es eine chemische Biomorphose des menschlichen Gehirns gibt. So schreibt SPATZ⁵⁾ über den Eisennachweis im menschlichen Gehirn folgendes: „Von der Pubertät gegen die Geburt zu wird die Eisenreaktion immer schwächer, die lokalen Intensitätsunterschiede der Zentren treten aber nur noch deutlicher hervor. Das erste Zentrum, welches durch seine Reaktion bereits bei Kindern von 1/2 Jahr sich deutlich abhebt, ist der Globus pallidus; dann folgt die Substantia nigra und später die übrigen Zentren in einer Reihenfolge, die der Intensität ihrer endgültigen Reaktion entspricht. Bei Föten blieb die Reaktion auch nach tagelanger Einwirkung der Reagenzien völlig negativ, im auffälligen Gegensatz zur intensiven Reaktion an Leber und Milz. Während von diesen Autoren mit *histochemischen* Methoden das Auftreten und die verschiedene Verteilung des Eisens auf die einzelnen Abschnitte des menschlichen Gehirns mit seiner Reifung deutlich gemacht wurden, liegt die Schwierigkeit, die Biomorphose des menschlichen Gehirns mit *chemischen* Methoden zu erfassen, darin, daß es mit den *heutigen* Verfahren der chemischen Scheidekunst schwer oder gar nicht möglich ist, das Gehirn in seinem chemischen Aufbau gewissermaßen restlos in *reine* Substanzen aufzuschließen. Bei unseren Bemühungen handelt es sich darum, exakt definierte Fraktionen herzustellen, die durch ihre „Leitfossilien“ N, P und S charakterisiert sind. Fraglich allerdings bleibt es bei diesem Verfahren, ob die in den einzelnen Alterskollektiven aufgefundenen „Leitfossilien“

¹⁾ NORDMANN, M., Kapillaren und Interstitium. Hamburger Symposium, Okt. 1954, Thieme, Stuttgart 1955, S. 41; ders.: Ref. 24. Tagg. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 11.—13. 4. 58 i. Bad Nauhim.

²⁾ LANG, J., Morpholog. Jahrb. 98, 387 (1957).

³⁾ PFLUGFELDER, O., Z. Alternsforsch. 1959, i. Druck.

⁴⁾ VOGT, C. u. O., J. Psychol. u. Neur. 50, 422 (1942).

⁵⁾ SPATZ, H., Z. Neur. u. Psych. 77, 261 (1922).

N, P und S für jede Altersstufe dieselbe Bedeutung haben. Nach unseren früheren Untersuchungen ergab z. B. bei der Berechnung der Phosphorlipide durch *Multiplikation* des Phosphors mit 25 die Summe aller Lipoidfraktionen des menschlichen Gehirns einen 100prozentigen Aufschluß.¹⁾ Trotzdem zeigt es sich bei der weiteren Analyse, daß bestimmte Gruppen der Lipide für stickstoffreiche Produkte in den einzelnen Fraktionen „*Schlepperdienste*“ verrichten, so daß entgegen unseren früheren Annahmen durch unser Lipoid-Extraktionsverfahren eiweißartige Substanzen in die Lipoidextrakte hineingeraten. Unter diesen scheinen die *Proteolipide* (PLP) eine besondere Rolle zu spielen.

Die Zahl der in unsere Untersuchungen einbezogenen Gehirne ist seit unserer ersten Mitteilung²⁾ an dieser Stelle im Jahre 1954 auf 500 gestiegen. Die mit meinem Chemiker, Dr. HAASE, in den letzten Jahren fortgesetzten Untersuchungen über die chemische Biomorphose des Gehirns haben die Tatsache der physiologischen Lebenswandlungen, soweit sie sich mit *chemischen* Methoden nachweisen lassen, weiterhin *bestätigt*. Der Gehalt der entwässerten Hirnsubstanz an extraktionsfähigen Lipoiden schwankt in den einzelnen Alterskollektiven, vom 2. Lebensjahr an gerechnet, zwischen 52% und 59%. Er beträgt im Mittel der männlichen Kollektive 53%, im Mittel der weiblichen Kollektive 50% der Trockensubstanz. Stets enthalten die *männlichen* Gehirne, mit den *gleichen* Methoden untersucht, *mehr* Lipide als die *weiblichen*. Die maximale Differenz in den Altersstufen beträgt 5,7%, die mittlere etwa 3%. Diese *Sexualdifferenz* hat sich auch in den fortgesetzten Untersuchungen bestätigt. Auch die Tatsache, daß das Gehirn mit zunehmendem Alter bei beiden Geschlechtern an Gewicht verliert, haben unsere weiteren Erfahrungen erwiesen. Das Gewicht des weiblichen Gehirns ist in allen Altersstufen geringer als das des männlichen.

Der *Alternsschwund* des menschlichen Gehirns geht im wesentlichen auf Kosten der *lipoiden* Anteile des menschlichen Gehirns. Unter diesen spielen wieder die Phosphatide die dominante Rolle. Wird der Phosphatidgehalt aus dem Lipoidphosphor mit dem Multiplikationsfaktor 25 berechnet, so ergeben sich im 6. Dezennium 41,2% Phosphatide für die Männer und 39,6% für die Frauen.

Die *phosphorhaltigen Lipide* haben wir summarisch aus dem Phosphorgehalt durch Multiplikation mit dem Faktor 25 errechnet. Unter den Phosphatiden haben wir als gesichert angenommen: Lecithin, Kephalin, Sphingomyelin und Plasmalogene. Für die drei Gruppen Lecithin, Sphingomyelin und Kephalin ist der Berechnungsfaktor praktisch identisch (Phosphatid = P × 25). Andersartige Phosphatide mit einem abweichenden Phosphorgehalt sind im Gehirn bisher nicht sicher erwiesen (SCHUWIRTH, BRANTE³⁾).

Der Stickstoff-, Phosphor- und Schwefelgehalt der Hirnlipide im Laufe des Lebens in Prozent der Lipoidsubstanz ist vom 1. bis 80. Lebensjahr auf der nachfolgenden Tabelle 1 zusammengestellt:

Die Lipoidphosphorwerte der Tabelle 1 liegen in den ersten 12 Monaten der *Aufbauperiode* wesentlich über den Mittelwerten von 1,49%. Vermutlich sind in dieser Zeit kleinere phosphorhaltige Aufbausteine miteinfaßt, die den Phosphorgehalt der *Lipide* im 1. Lebensjahr in die Höhe treiben und für welche der Multiplikationsfaktor von 25 nicht gerechtfertigt ist. In der späteren Lebenszeit pendeln die Phosphorwerte nur wenig um den Mittelwert von 1,49%.

¹⁾ Hierbei wurden die Cerebroside nach Hydrolyse aus dem Galaktosegehalt, die Neutralfette aus dem nicht an Phosphatide gebundenen Glycerin berechnet.

²⁾ M. BÜRGER, Z. Altersforsch. 8, 1 (1954). Ders., Abhdlg. d. Sächs. Akad. d. Wiss. z. Leipzig, 45, H. 6, Akademie-Verlag, Berlin 1957.

³⁾ BRANTE, G., Studies on Lipoids in the Nervous System, Acta Physiolog. Scandinavica, 18, Suppl. 63, Upsala 1949.

Tabelle 1

Stickstoff- Phosphor- und Schwefelgehalt der Hirnlipide im Laufe des Lebens
in Prozent der Lipoidsubstanz

| Altersstufe | Anzahl der Fälle | Stickstoff in % | | | Phosphor in % | | | Schwefel in % | | |
|--------------|---------------------|-----------------|------|---------------------|---------------|------|---------------------|---------------|------|---------------------|
| | | ♂ | ♀ | Mittelwert ♂ + ♀ | ♂ | ♀ | Mittelwert ♂ + ♀ | ♂ | ♀ | Mittelwert ♂ + ♀ |
| Neugeborene | 13 + 13 | 3,43 | 3,08 | 3,25 | 1,88 | 1,86 | 1,87 | 0,38 | 0,39 | 0,39 |
| 0—3 Monate | 13 + 13 | 2,87 | 2,80 | 2,83 | 1,70 | 1,70 | 1,70 | 0,36 | 0,37 | 0,37 |
| 4—12 „ | 26 + 26 | 2,38 | 2,36 | 2,37 | 1,60 | 1,59 | 1,60 | 0,34 | 0,35 | 0,35 |
| > 1—10 Jahre | 12 + 12 | 2,00 | 2,17 | 2,09 | 1,30 | 1,30 | 1,30 | 0,31 | 0,32 | 0,32 |
| 11—20 „ | 16 + 16 | 2,28 | 2,14 | 2,21 | 1,36 | 1,35 | 1,36 | 0,28 | 0,28 | 0,28 |
| 21—30 „ | 23 + 10 | 2,58 | 2,32 | 2,45 | 1,44 | 1,47 | 1,46 | 0,29 | 0,32 | 0,31 |
| 31—40 „ | 17 + 24 | 1,82 | 1,96 | 1,89 | 1,52 | 1,49 | 1,51 | 0,27 | 0,31 | 0,29 |
| 41—50 „ | 22 + 23 | 2,10 | 1,96 | 2,03 | 1,46 | 1,55 | 1,51 | 0,26 | 0,32 | 0,29 |
| 51—60 „ | 25 + 20 | 2,32 | 2,24 | 2,28 | 1,65 | 1,58 | 1,62 | 0,27 | 0,31 | 0,29 |
| 61—70 „ | 12 + 12 | 2,18 | 2,03 | 2,11 | 1,57 | 1,56 | 1,57 | 0,29 | 0,34 | 0,32 |
| 71—74 „ | 13 + 13 | 2,60 | 2,45 | 2,53 | 1,49 | 1,46 | 1,48 | 0,30 | 0,34 | 0,32 |
| 75—80 „ | | | | | 1,35 | 1,34 | 1,35 | | | |

Abbildung 1 illustriert den Kalorienwert der wasserfreien Hirnsubstanz in Beziehung zu ihrem prozentualen Lipoid- und Eiweißgehalt. Man erkennt, daß bei Neugeborenen und im 1. Lebensjahr die Trockensubstanz um mindestens 1000 Kalorien ärmer ist als auf der Lebenshöhe. Diese Tatsache weist darauf hin, daß die Lipide in der *Aufbauperiode* erst *gebildet* werden und daß der Phosphorgehalt der Lipide in dieser Zeit noch nicht als Lipoidphosphor angesehen werden, sondern nur als Phosphorgehalt der *Bausteine* berücksichtigt werden darf und daher *nicht* mit dem Faktor 25 zu multiplizieren ist.

Diese Überlegungen gelten nicht nur für die wasserfreie Hirnsubstanz, die beim Neugeborenen wegen ihrer Mischung mit reichlich eiweißhaltigen Substanzen 6100 Kalorien enthält, sondern auch für den *Kaloriengehalt* der *Hirnlipide*, welcher bei Neugeborenen 7400 Kalorien beträgt, auf der Lebenshöhe aber 8100 Kalorien zeigt, d. h., die Lipide sind im Laufe der Aufbauperiode kalorienreicher geworden, und der in ihnen enthaltene Phosphor hat erst auf der Lebenshöhe, etwa vom 11. Lebensjahre an beginnend, die Bedeutung von Lipoidphosphor.

Daß im 1. Lebensjahr sich nicht alle Phosphorverbindungen so verhalten wie die Phosphatide auf der Lebenshöhe, haben Versuche gezeigt, die bei der *Dialyse der Gesamtlipide* im 1. Lebensjahr wesentlich *mehr dialysable Phosphorverbindungen* aufweisen als auf der Lebenshöhe.

Für die Stickstoffwerte des 1. Lebensjahres, welche die höchsten der ganzen Altersreihe sind, gelten die gleichen Überlegungen der Beimengung kleinerer N-reicher Bausteine. Vom 2. Lebensjahre an pendeln die N-Werte um ein Mittel von 2,4%. Sie steigen aber in den höchsten Altersstufen über diesen Wert deutlich an.

I. Der „Mehrstickstoff“ in den Lipoiden

(Differenz des N-Gehalts der bekannten N-haltigen Hirnlipide gegenüber dem N-Gehalt der Gesamtlipide)

Ein Vergleich der aus den Phosphatiden (Kephalin, Lecithin, Sphingomyelin) und aus den Cerebrosiden errechneten Stickstoffsumme mit den in den Gesamtlipoiden nachgewiesenen

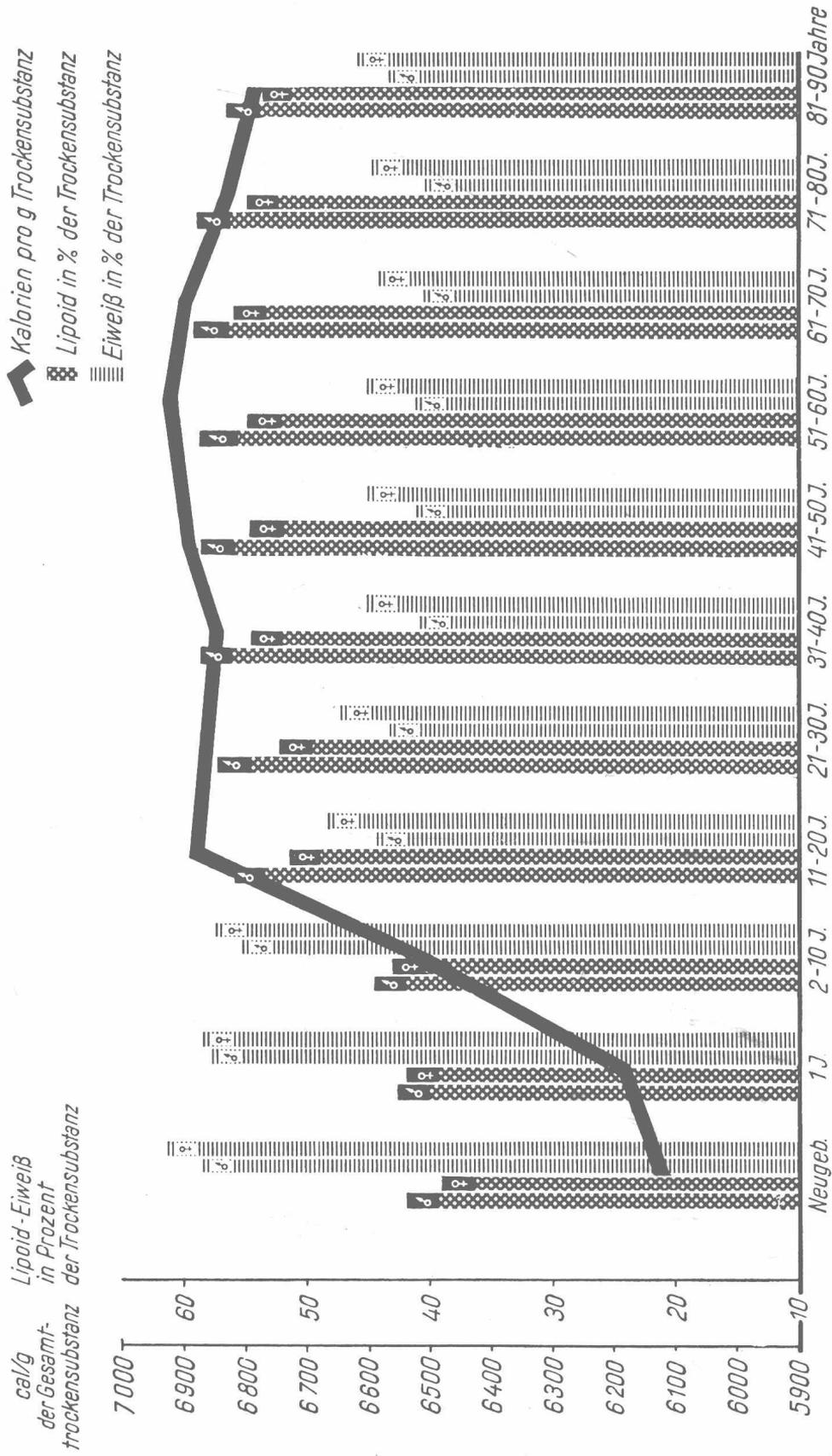


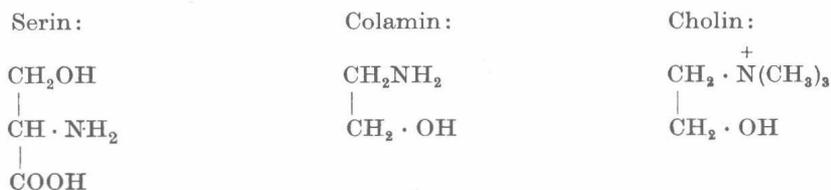
Abbildung 1. Beziehung des Kaloriengehaltes der Hirntrockensubstanz zum Lipoid-Eiweiß-Verhältnis

N-Mengen zeigt regelmäßig in allen Altersstufen einen *Überschuß* der Gesamtlipoid-Stickstoffwerte über die Summe des Phosphatid- und Cerebrosidstickstoffs. Da die weiterhin nachgewiesenen Produkte in dem Lipoidkomplex (Sterine und Neutralfett) N-frei sind, muß der Mehr-N andere Quellen haben. Diese Quellen aufzufinden, ist der Gegenstand der gegenwärtigen Bemühungen. In unserer ersten Mitteilung¹⁾ aus dem Jahre 1954 gingen wir von der Annahme aus, daß durch unsere Extraktion der wasserfreien Hirnsubstanz mit einem Methylalkohol-Chloroformgemisch 3 : 1, darauf Äther-Alkohol 1 : 1 und schließlich mit Methylalkohol-Chloroform 1 : 3 sämtliche, und zwar *ausschließlich Lipide* erfaßt seien. Diese Annahme hat sich als unrichtig erwiesen, seitdem die Untersuchungen von FOLCH²⁾ gezeigt haben, daß bei diesem Vorgehen der Extraktion auch an *Eiweiß* gebundene, von FOLCH so genannte *Proteolipide*³⁾ in die Extrakte hineingehen. Diese Proteolipide (PLP) würden zwanglos den Mehr-N in unseren Lipoidextrakten gegenüber dem *Phosphatid-N* erklären (s. Tab. 2).

Auf Tabelle 2 sind die N-Werte, die aus dem Gesamtlipoid analysiert wurden, mit den aus dem Phosphatid-N und Cerebrosid-N errechneten Werten verglichen. Die Gesamtphosphatide sind durch Multiplikation der Phosphorwerte mit dem Faktor 25 berechnet. In der Aufbauperiode gelten sie nur für die obengenannten Einschränkungen. Die Phosphatide wurden in Sphingomyelin, Lecithin und Kephalin aufgeschlüsselt: Das Sphingomyelin wird durch vorsichtige Verseifung der Gesamthirnlipide mit 1-n-Kalilauge im Gegensatz zu den übrigen Phosphorlipiden *nicht* verseift. Es wird dann mit Trichloressigsäure gefällt, in der Fällung der Phosphor bestimmt und daraus das Sphingomyelin durch Multiplikation mit dem Faktor 23,5 berechnet. Lecithin und Kephalin wurden gemeinsam aus den verbleibenden P-Werten errechnet. Die Tabelle 2 zeigt also ferner den Cerebrosid-N und Sphingomyelin-N, Lecithin-N und Kephalin-N. Für den Sphingomyelin-N wurde der Faktor 0,0384, für den Lecithin-N 0,019 und für den Cerebrosid-N der Faktor 0,0169 verwendet. Wird die Summe der N-Werte für die bekannten Phosphatide und Cerebroside mit der N-Menge, die sich bei der Analyse der Gesamtextrakte ergibt, verglichen, so ist in allen Altersstufen ein *Überschuß* an N über den N der definierten Lipide festzustellen. Abgesehen vom 1. Lebensjahre, bewegt sich dieser *Mehrstickstoff* in der Größenordnung von 1%. Er steigt erst in den höchsten Altersstufen (im 8. u. 9. Dezennium) bis auf 1,63% an. An den N-haltigen Hirnlipiden der Aufstellung unserer Tabelle 2 sind unberücksichtigt geblieben die *Serinphosphatide*.

Im Rattenhirn enthalten nach C. ARTOM⁴⁾ ca. 25% der Phosphorlipide Serin an Stelle Cholin bzw. Colamin.

Serin ist ein am β -Kohlenstoffatom substituiertes Alanin:



Die geringen Unterschiede im N-Gehalt des Serins und Cholins können den Mehr-N in unserer Tabelle 2 nicht erklären.

¹⁾ BÜRGER, M., Altersforsch. 8, H. 1 (1954).

²⁾ FOLCH, I. und LEES, M., J. of Biol. Chem. 191, 807 (1951)

³⁾ Wir legen Wert auf die Unterscheidung zwischen Proteolipiden (PLP), die in allen menschlichen Geweben vorkommen und Lipoproteiden, die neuerdings im Blut aufgefunden wurden; beide unterscheiden sich durch ihre verschiedene Löslichkeit in Wasser bzw. Lipoidlösungsmitteln.

⁴⁾ ARTOM, C., J. biol. Chem. 157, 595 (1945).

Tabelle 2

Vergleich des analytisch ermittelten Gesamtlipoid-N mit dem aus Phosphatid- und Cerebrosidgehalt errechneten N im Gehirnlipoid

Mittelwerte männlich + weiblich in Prozent vom Gesamtlipoid

| | 0-1 | 2-10 | 11-20 | 21-30 | 31-40 | 41-50 | 51-60 | 61-70 | 71-80 | 81-90 Jahre |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|
| Gesamt-Phosphatid | 43,5 | 32,5 | 33,9 | 36,5 | 38,5 | 38,3 | 41,0 | 38,3 | 35,3 | 32,4 |
| Sphingomyelin | 7,1 | 8,8 | 8,8 | 9,9 | 9,9 | 9,9 | 9,9 | 9,9 | 8,1 | 8,1 |
| Lecithin + Kephalin | 35,9 | 23,7 | 25,1 | 26,6 | 28,6 | 28,4 | 31,1 | 28,4 | 27,2 | 24,4 |
| Cerebroside | 12,4 | 17,1 | 17,4 | 18,7 | 18,8 | 18,4 | 17,2 | 17,9 | 17,5 | 15,7 |
| Sphingomyelin-N (F. ¹) 0,0384) | 0,273 | 0,338 | 0,338 | 0,38 | 0,38 | 0,38 | 0,38 | 0,38 | 0,31 | 0,31 |
| Lecithin- + Kephalin-N (F. 0,0190) | 0,688 | 0,450 | 0,477 | 0,505 | 0,542 | 0,540 | 0,590 | 0,540 | 0,515 | 0,464 |
| Cerebrosid-N F. 0,0169) | 0,211 | 0,288 | 0,294 | 0,315 | 0,318 | 0,310 | 0,290 | 0,302 | 0,295 | 0,265 |
| Gesamt-Phos- phatid- + Cerebrosid-N | 1,172 | 1,076 | 1,109 | 1,200 | 1,240 | 1,230 | 1,260 | 1,222 | 1,120 | 1,039 |
| Gesamt-Lipoid-N | 2,820 | 2,090 | 2,210 | 2,450 | 1,890 | 2,030 | 2,280 | 2,110 | 2,530 | 2,670 |
| Differenz = „Mehr“-N | 1,65 | 1,01 | 1,10 | 1,25 | 0,65 | 0,80 | 1,02 | 0,89 | 1,41 | 1,63 |
| $N:P = \frac{\text{Ges.-Lipoid-N}}{\text{Gesamt P}}$ | 1,62 | 1,61 | 1,63 | 1,68 | 1,23 | 1,33 | 1,39 | 1,39 | 1,80 | 2,06 |
| $N:P = \frac{\text{Phosphatid-N} + \text{Cerebrosid-N}}{\text{Gesamt P}}$ | 0,67 | 0,83 | 0,82 | 0,82 | 0,81 | 0,81 | 0,77 | 0,80 | 0,80 | 0,80 |

Derselbe könnte sich aus N-reichen Abbauprodukten der Phosphatide herleiten, für die wir keinen Anhalt gefunden haben. Gerade Cholin ließ sich in unseren Gesamtextrakten niemals nachweisen.

Ein gewisser Unsicherheitsfaktor liegt in der quantitativen Erfassung der *Cerebroside*, die als phosphorfreie Substanzen an Stelle der Phosphorsäure Galaktose enthalten. Diese wurde durch Hydrolyse der Lipide mit 10prozentiger Salzsäure bestimmt. Es hat sich gezeigt, daß die optimale Hydrolysezeit für die Gehirne der einzelnen Altersstufen *nicht* die gleiche ist. Während nach *einstündiger Hydrolyse* für die *jungen* Gehirne offenbar das Optimum der Hydrolyse zur Gewinnung der Galaktose erreicht ist, steigen bei weiterer Dauer der Hydrolyse bis auf 90 Minuten die Reduktionswerte der *alten* Gehirne noch an, während für die *jüngeren* bereits ein Abfall eingetreten ist (s. Tab. 3).

Für unsere Berechnungen der Cerebroside wurden immer die maximalen Reduktionswerte nach der Hydrolyse eingesetzt (Tab. 3). Es zeigt sich, daß bis zum 20. Jahre entsprechend unserer ersten Mitteilung¹⁾ die Cerebroside mengenmäßig ansteigen. Die Werte der Gesamtcerebroside schwanken vom 2. Lebensjahre an zwischen 16,5% und 20% im 3. Dezennium, um in den höchsten Altersstufen wieder abzunehmen.

¹⁾ F. = Multiplikationsfaktor für N, berechnet nach den Werten der Mitteilung von M. BÜRGER, Die chemische Biomorphose des menschlichen Gehirns. Abhdlg. d. Sächs. Akad. d. Wiss. zu Leipzig, 45, H. 6, Akademie-Verlag, Berlin 1957.

Tabelle 3

Vergleich der Cerebrosidwerte bei verschiedenen Hydrolysezeiten

| Altersstufe | Zahl der Fälle im Kollektiv ♂ + ♀ | Hydrolysezeit | | | Maximalwerte ♂ | Hydrolysezeit | | | Maximalwerte ♀ |
|-------------|--------------------------------------|---|---------|----------|-------------------|---|---------|----------|-------------------|
| | | 60 Min. | 90 Min. | 120 Min. | | 60 Min. | 90 Min. | 120 Min. | |
| | | Cerebrosid der Gesamtlipoide in % männlich | | | | Cerebrosid der Gesamtlipoide in % weiblich | | | |
| Neugeborene | 4 + 3 | 11,5 | 11,4 | 9,7 | 11,5 | 12,6 | 12,6 | 8,8 | 12,6 |
| 0-3 Monate | 15 + 13 | 12,3 | 12,0 | 9,0 | 12,3 | 12,3 | 10,7 | 8,2 | 12,3 |
| 4-6 „ | 11 + 6 | 14,2 | 11,9 | 9,9 | 14,2 | 14,5 | 12,1 | 11,7 | 14,5 |
| 7-12 „ | 4 + 4 | 14,2 | 12,0 | 12,8 | 14,2 | 14,3 | 12,4 | 12,1 | 14,3 |
| > 1-5 Jahre | 5 + 3 | 15,8 | 15,1 | 13,4 | 15,8 | 17,0 | 16,9 | 15,0 | 17,0 |
| 6-10 „ | 2 + 3 | 17,2 | 17,8 | 13,4 | 17,8 | 17,2 | 17,6 | 13,4 | 17,6 |
| 11-15 „ | 3 + 4 | 17,5 | 18,2 | 12,1 | 18,2 | 16,4 | 16,4 | 15,4 | 16,4 |
| 16-20 „ | 7 + 10 | 17,8 | 18,3 | 13,9 | 18,3 | 16,6 | 16,6 | 15,8 | 16,6 |

In den letzten beiden Querspalten der Tabelle 2 ist das Verhältnis N : P für die Altersstufen dargelegt, und zwar in der vorletzten Zeile Gesamtlipoid-N : Gesamtlipoid-P, in der letzten Zeile (Phosphatid-N + Cerebrosid-N) : Gesamt-P. Die erste Art der Berechnung läßt den Mehr-N erkennen. Wenn aber die Summe des Gesamt-Phosphatid-N + Cerebrosid-N allein im Verhältnis zum Phosphorwert gesetzt wird, sind die Werte von allen Altersstufen, abgesehen vom 1. Lebensjahr, konstant. Nicht berücksichtigt werden konnte die Frage, ob der Phosphorwert im 1. Lebensjahre im ganzen auf Phosphatide bezogen werden darf, oder ob in dieser Aufbauperiode nicht phosphorreichere Bausteine vorliegen, die natürlich das Verhältnis N : P ändern müssen. Fortgesetzte Untersuchungen haben gezeigt, daß bei vorsichtiger Trocknung der Hirnsubstanzen mit der Gefriermethode und anschließender Kaltextraktion freie Aminosäuren in den Extrakten in geringer Menge sich nachweisen lassen. Die Papierchromatographie zeigte, daß es sich nicht allein um Serin handelt (vgl. S. 20).

II. Die chemische Biomorphose des Hirns der Höchstbetagten

Wie wir bereits in der ersten Mitteilung¹⁾ auseinandersetzen, haben wir uns bemüht, auf Grund der Angaben unseres Pathologischen Instituts nur einwandfreie „gesunde“ Hirne für unsere Untersuchungen zu verwenden. Es ist klar, daß mit zunehmendem Alter die Grenze zwischen Gesund und Krank fließender wird, was sich auch aus histologischen Hirnuntersuchungen (SPATZ) ergibt. Aus diesem Grunde haben wir die chemische Biomorphose der Hirne der Höchstbetagten an Hand eines neuen Kollektivs von 42 Hirnen aus dem 9. Dezen-nium einer kurzen Sonderbetrachtung unterzogen. Die Extraktion der Lipoidsubstanzen war nach den früher beschriebenen Methoden vorgenommen worden, das erhaltene Lipoid wurde bis zur Ausführung der Bestimmungen in Chloroformlösung aufbewahrt. Bestätigt wurde zunächst, daß sowohl das *Feuchtgewicht* als auch das *Trockengewicht* des Gehirns der Höchstbetagten am *niedrigsten* von allen Altersstufen liegt. Der Wassergehalt der Gehirne erfährt in den höchsten Altersstufen wieder eine geringe Zunahme von ca. 1%. Diese Erscheinung ist vielleicht nicht mehr als normal zu bezeichnen, sondern auf eine beginnende Ödembildung infolge von Gefäßveränderungen der Kapillaren zurückzuführen. Die Differenz der Trockengewichte von männlichen und weiblichen Gehirnen innerhalb der gleichen Altersstufe wird

¹⁾ M. BÜRGER, Z. Altersforsch. 8, 1 (1954).

im 9. Dezennium geringer gegenüber den früheren Dezennien (vgl. Tab. 4). Diese Tatsache stimmt mit der allgemeinen Beobachtung überein, daß sich die geschlechtsbetonten Eigenschaften in allen Geweben in den höchsten Altersstufen angleichen.

Wichtig erschien uns nun die Bestimmung des Lipoid-N und des Lipoid-P, die einmal in Prozent des Gesamtlipoids angegeben und zum anderen auf das Gesamtgehirn (Trockensubstanz) bezogen wurden (vgl. Tab. 4).

Tabelle 4

Vergleich von Hirngewichten, Lipoid-N und Lipoid-P-Gehalt der höchsten Altersstufen

Den Werten liegt das Material der eigenen Sammlung zugrunde.

Nach den Werten des Akademieberichts¹⁾ berechnet.

I. Hirngewichte

| Altersstufe in Jahren | Zahl der Fälle | | Mittleres Feuchtgewicht in g | | Diffe- renz in g | Mittleres Trockengewicht in g | | Diffe- renz in g | Wassergehalt in g | |
|--------------------------|-------------------|----|------------------------------------|------|------------------------|-------------------------------------|-----|------------------------|----------------------|------|
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ | | ♂ | ♀ |
| 41–50 | 11 | 15 | 1260 | 1146 | 114 | 271 | 246 | 25 | 78,5 | 78,6 |
| 51–60 | 13 | 14 | 1322 | 1154 | 178 | 286 | 242 | 44 | 78,4 | 78,9 |
| 61–70 | 13 | 13 | 1250 | 1148 | 102 | 265 | 235 | 30 | 78,8 | 79,5 |
| 71–80 | 21 | 15 | 1204 | 1060 | 144 | 246 | 212 | 34 | 79,6 | 80,0 |
| 81–90 | 19 | 23 | 1122 | 1053 | 69 | 231 | 212 | 19 | 79,4 | 79,8 |

II. Lipoid-N-Gehalt

| Altersstufe in Jahren | Lipoidgehalt in % | | Gesamtlipoidmenge eines Gehirns in g | | Stickstoff im Lipoid in % | | Lipoid-N in einem Gehirn in g | |
|--------------------------|----------------------|------|--|-----|---------------------------------|------|-------------------------------------|------|
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 40–50 | 58,2 | 52,9 | 158 | 130 | 2,41 | 2,47 | 3,70 | 3,22 |
| 51–60 | 58,4 | 54,6 | 167 | 132 | 2,43 | 2,60 | 4,05 | 3,44 |
| — | | | | | | | | |
| 71–80 | 58,3 | 55,3 | 144 | 117 | 2,68 | 2,54 | 3,86 | 2,98 |
| 81–90 | 56,8 | 55,0 | 130 | 114 | 2,90 | 2,59 | 3,78 | 2,95 |

III. Lipoid-P-Gehalt

| Stab I | Gesamtlipoidmenge eines Gehirns in g | | P im Lipoid in % | | Lipoid-P in einem Gehirn in g | | N : P | |
|--------|---|-----|------------------|------|----------------------------------|------|-------|------|
| | II | | III | | IV | | V | |
| | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| 41–50 | 158 | 130 | 1,48 | 1,71 | 2,34 | 2,22 | 1,65 | 1,44 |
| 51–60 | 167 | 132 | 1,62 | 1,55 | 2,71 | 2,05 | 1,50 | 1,67 |
| — | | | | | | | | |
| 71–80 | 144 | 117 | 1,56 | 1,52 | 2,25 | 1,61 | 1,72 | 1,67 |
| 81–90 | 130 | 114 | 1,83 | 1,73 | 2,38 | 1,97 | 1,58 | 1,50 |

¹⁾ M. BÜRGER, Abhdlg. d. Sächs. Akad. d. Wiss. z. Leipzig, 45, H. 6, Akademie-Verlag, Berlin 1957.