

## 182. Zur Kenntnis der Lipide aus dem Gehirn eines Buckelwals (*Megaptera novae-angliae* BOROWSKY)

von Peter Lesch und Karl Bernhard

(14. V. 66)

Mit modernen Methoden durchgeführte Analysen der Lipide tierischer Gehirne liegen erst vereinzelt vor und betreffen z. B. Organe von Ratten [1] oder vom Rind [2]. Die unter verschiedenen Aspekten interessanten Gehirne der Wale und Delphine wurden bis jetzt kaum eingehend chemisch geprüft. Da von neurologischer Seite indessen mit morphologischen Untersuchungen begonnen wurde [3], schien uns eine Ausdehnung unserer Arbeiten über menschliche Hirne [4] auf solche von Walen oder Delphinen angezeigt.

Im folgenden berichten wir über die lipidchemische Analyse des Hirnes eines Buckelwals, *Megaptera novae-angliae* BOROWSKY. Es stand indessen nur ein bereits seit zwei Jahren in Formol gelagertes Organ zur Verfügung<sup>1</sup>). Da verschiedentlich Bedenken geäußert wurden, eine Formol-Fixierung bedinge bereits wesentliche Veränderungen empfindlicher Lipidkomponenten, ergaben sich gewisse Vorbehalte. Weil aber oft medizinisch-biologisch interessante Objekte nach der Obduktion eine solche Behandlung erfahren, hielten wir es für nützlich, zur Abklärung der Frage beizutragen, inwiefern von chemischen Untersuchungen in solchen Fällen noch brauchbare Ergebnisse zu erwarten sind.

Aus der Tabelle 1 ist ersichtlich, dass Grosshirn-Rinde und Kleinhirn niedrigere Gehalte an Reinlipiden und Trockensubstanz aufweisen als Mark, Zwischenhirn und Pons. Der Wassergehalt wird durch die Formol-Fixierung nicht verändert. Die Neutrallipide sind in allen Abschnitten mit Ausnahme des Markes in annähernd gleichem Ausmasse enthalten (Tab. 2). Alle Regionen enthalten etwa gleich viel Cholesterin (26–28%), ähnlich den Gehirnen menschlicher Neugeborener, aber etwas mehr als die Gehirne alter Menschen [4]. Mark und Pons weisen ziemlich genau wie menschliche Gehirne etwa 20%, Rinde und Kleinhirn etwa 12% Cerebroside auf. Am meisten Sphingomyeline finden sich in der Rinde. Rinde und Kleinhirn enthalten etwa gleichviel Lecithine. Colamin-Kephaline konnten wir als Folge der Formol-Konservierung nicht mehr isolieren. Die Angaben von DAVISON & WAJDA [5], wonach Cerebroside, Sphingomyeline und Lecithine bei der Formol-Fixierung nicht benachteiligt werden, können wir bestätigen. Indessen ergaben Parallelversuche an frischen und Formol-fixierten menschlichen Gehirnen, dass die Äthanolamin-Phosphatide nach Formol-Fixation nicht lediglich nur vermindert, sondern in den Neutrallipiden überhaupt nicht mehr vorhanden sind. Offenbar spaltet sich das Äthanolamin ab. Die verbleibenden Phosphatidsäuren werden bei der Abtrennung der sauren Lipide erfasst.

Aus allen rein erhaltenen Fraktionen wurden die Fettsäuren gewonnen und als Methylester gas-chromatographisch analysiert. Die Cerebroside (Tab. 3) enthalten

<sup>1</sup>) Wir danken Herrn P.D. Dr. GEORG PILLERI (Hirn-Anatomisches Institut der Psychiatrischen Universitätsklinik, Heil- und Pflegeanstalt Waldau, Bern, für die Überlassung dieses Materials bestens.

unsubstituierte und Hydroxysäuren im Verhältnis 1:1, erstere die gesättigten und ungesättigten Säuren gleichfalls zu gleichen Teilen. Bei den Monohydroxysäuren überwiegen die gesättigten. Die Fettsäurezusammensetzung stimmt weitgehend mit derjenigen für die Cerebroside aus menschlichen Gehirnen überein. Es bestehen ebensolche Differenzen zwischen weisser und grauer Substanz. Hauptvertreter der unsubstituierten Säuren sind solche mit 16, 18 und 24, der substituierten solche mit 23 und 24 C-Atomen. Hervorzuheben ist das Auftreten von Eicosan- (20:0), von Eicosen- (20:1) und Hydroxyeicosansäuren (20h:0). Andererseits sind die Säuren mit mehr als 24 C-Atomen (z. B. 25:0, 25:1, 26:0, 26:1) nur schwach vertreten. Die Sphingomyeline aus der Rinde (Tab. 4) und dem Kleinhirn sind reicher an gesättigten Fettsäuren als diejenigen aus den drei übrigen Regionen. Stearin- und Nervensäure herrschen vor. Eicosansäure ist mit 6 bis 9% reichlicher vorhanden als in den Sphingomyelinen der Menschenhirne (1–2%). Es bestehen wieder eindeutige Unterschiede zwischen grauer und weisser Substanz. Die Lecithine aus der Grosshirnrinde enthalten mehr gesättigte Säuren als diejenigen aus den übrigen Regionen (Tab. 5). Palmitin- und Ölsäure dominieren. Der Anteil der mehrfach ungesättigten Säuren ist gering. Die freien Fettsäuren aus den sauren Lipiden bestehen in der Hauptsache aus Palmitin-, Stearin- und Ölsäure (Tab. 6). Rinde, Zwischenhirn und Pons einerseits, Mark und Kleinhirn andererseits weisen etwa dieselben Konzentrationen auf.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Rahmen eines vom SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS unterstützten Forschungsprogrammes durchgeführt.

Tabelle 1. *Gesamtrockensubstanz und Reinlipide in Prozenten des Frischgewichtes*

	Grosshirn		Zwischenhirn	Kleinhirn	Pons
	Rinde	Mark			
Trockensubstanz	23,2	33,4	30,5	19,8	30,3
Reinlipide	5,1	15,1	10,7	4,0	13,5

Tabelle 2. *Gehalte der Reinlipide aus neutralen und sauren Anteilen an Cholesterin, Cerebrosiden, Lecithinen und Sphingomyelinen (mg/g)*

	Grosshirn		Zwischenhirn	Kleinhirn	Pons
	Rinde	Mark			
<i>Neutrale Lipide:</i>	674	722	696	694	686
Cholesterin	257	281	280	276	262
Cerebroside	113	204	180	124	214
Lecithine	162	104	99	156	82
Lysolecithine	2	3	4	2	3
Sphingomyeline	105	96	89	93	85
Substanz X	26	30	30	23	26
<i>Saure Lipide:</i>	278	231	214	274	246
Fraktion 1	49	52	54	69	53
Fraktion 2 (FFA)	72	47	43	91	47
Fraktion 3	117	106	92	85	116
Fraktion 4	39	25	25	25	27
<i>Oxyd.-Produkte</i>	38	37	81	30	58

**Experimentelles.** – Der betreffende Buckelwal wurde an der Natalküste (Durban Gewässer) im August 1963 harpuniert.

Wir entnahmen dem von Oktober 1963 bis November 1965 Formol-konservierten Organ aus Grosshirn-Rinde, Grosshirn-Mark, Zwischenhirn, Kleinhirn und Pons Proben von je 40 g. Die Extraktion der Gesamtlipide und die Abtrennung der Neutralfraktion erfolgte wie früher.

Die sauren Lipide wurden nach ihrer Eliminierung von der DEAE-Sephadex-Kolonnen durch Dialyse in einem Cellophanschlauch vom Ammoniak-Überschuss befreit und auf einer Silicagel-

Tabelle 3. *Prozentuale Zusammensetzung der Cerebrosid-Fettsäuren*

C-Zahl	Grosshirn Rinde	Mark	Zwischenhirn	Kleinhirn	Pons
<i>A. Unsubstituierte Säuren</i>					
14:0	0,7	0,2	0,6	0,7	0,5
14:1	<0,1	0,2	<0,1	<0,1	<0,1
16:0	14,8	10,0	12,7	11,1	7,6
16:1	1,8	0,7	0,7	1,1	0,2
17:0	<0,1	<0,1	0,1	0,1	<0,1
17:1	0,1	<0,1	<0,1	0,1	<0,1
18:0	31,6	14,8	17,4	30,7	15,9
18:1	29,5	12,8	15,6	27,4	11,5
19:0	<0,1	0,1	0,1	<0,1	0,1
20:0	1,3	4,2	2,5	2,4	4,1
20:1	2,6	4,0	4,7	3,1	5,1
22:0	0,4	1,5	1,2	0,5	1,7
22:1	0,2	1,0	1,3	0,6	1,5
23:0	0,8	4,0	2,3	1,2	3,0
23:1	0,2	0,2	0,6	0,1	0,2
24:0	4,1	9,3	6,1	3,4	8,7
24:1	10,0	30,2	28,9	14,7	36,2
25:0	0,4	1,4	0,7	0,3	0,8
25:1	0,8	3,9	4,3	2,5	2,9
26:1	0,6	1,5	0,2	<0,1	<0,1
<i>B. 2-Mono-hydroxysäuren</i>					
14h:0	0,5	0,7	0,7	1,0	1,0
14h:1	0,9	0,2	0,8	0,2	0,3
15h:1	0,6	0,5	0,6	0,9	0,5
16h:0	4,2	0,5	6,9	0,3	2,7
17h:0	0,2	<0,1	<0,1	0,9	<0,1
18h:0	1,7	3,3	4,1	3,2	4,0
18h:1	0,2	0,4	0,2	0,8	0,3
20h:0	1,8	3,3	4,3	4,2	4,8
20h:1	0,1	<0,1	0,1	<0,1	<0,1
21h:0	0,2	0,2	0,2	0,5	0,4
22h:0	5,8	7,0	7,0	5,7	7,3
22h:1	0,1	0,1	0,6	0,2	0,6
23h:0	12,8	13,6	12,1	11,7	11,2
23h:1	0,9	0,4	0,9	1,1	0,9
24h:0	37,5	26,7	25,6	24,8	25,4
24h:1	19,4	24,1	26,7	27,4	28,2
25h:0	4,1	6,3	2,4	5,6	4,3
25h:1	3,8	5,6	3,9	6,9	4,1
26h:0	0,1	1,0	0,2	0,7	0,2
26h:1	5,2	6,1	2,7	3,9	3,8

Tabelle 4. *Prozentuale Zusammensetzung der Sphingomyelin-Fettsäuren (Methylester)*

C-Zahl	Grosshirn		Zwischenhirn	Kleinhirn	Pons
	Rinde	Mark			
14:0	0,1	0,2	0,3	0,2	0,1
16:0	2,2	3,2	3,7	4,4	3,0
16:1	<0,1	0,3	0,5	0,5	0,2
17:0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
17:1	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
18:0	67,6	38,7	43,9	64,9	42,2
18:1	0,8	1,0	2,7	3,6	1,1
19:0	0,4	0,5	0,5	0,3	0,5
20:0	9,1	6,0	6,4	6,6	6,8
20:1	0,2	0,3	0,7	0,4	0,2
21:0	0,3	0,3	0,5	0,3	0,1
22:0	1,2	1,3	1,2	1,2	1,4
22:1	0,3	0,7	0,9	0,4	0,7
23:0	1,2	2,4	2,0	1,0	1,7
23:1	0,3	0,9	0,7	0,2	0,7
24:0	2,5	5,7	4,2	2,1	4,8
24:1	11,9	32,1	27,0	12,5	32,9
25:0	0,2	1,4	0,8	<0,1	0,6
25:1	1,2	3,9	3,1	1,2	1,9
26:1	0,4	1,0	0,8	<0,1	0,9

Tabelle 5. *Prozentuale Zusammensetzung der Lecithin-Fettsäuren*

C-Zahl	Grosshirn		Zwischenhirn	Kleinhirn	Pons
	Rinde	Mark			
14:0	1,9	0,8	1,3	2,7	0,7
15:0	0,2	<0,1	0,1	0,1	0,1
16:0	50,2	38,6	44,2	38,5	39,3
16:1	4,7	7,6	5,0	6,7	5,7
17:0	0,6	0,3	0,4	0,6	0,7
17:1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,6
18:0	9,8	6,0	8,0	9,7	7,3
18:1	27,9	40,9	36,4	36,7	39,6
18:2	0,5	0,7	0,4	0,8	1,2
18:3	0,2	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
20:1	1,0	2,7	2,4	1,1	3,8
20:2	<0,1	<0,1	0,8	<0,1	0,2
20:4	0,6	1,0	0,8	1,5	0,5
22:3	<0,1	<0,1	<0,1	0,3	0,3
22:4	<0,1	1,0	<0,1	<0,1	0,1
22:6	0,4	0,1	<0,1	1,1	<0,1

kolonne (Durchmesser 1,6 cm) getrennt. Mit 100 ml Chloroform erhielten wir eine erste Fraktion bestehend aus Phosphatidsäuren und nicht identifizierbaren Phosphatiden; mit weiteren 100 ml Chloroform eine zweite Fraktion enthaltend freie Fettsäuren, mit 150 ml Chloroform/Methanol 4:1 eine dritte Fraktion, Phosphatidsäuren der Colamin-Kephaline usw., und mit 250 ml Methanol eine vierte Fraktion, Ganglioside und nicht identifizierbare Phosphatide enthaltend.

Aus den Neutrallipiden konnten keine Colamin-Kephaline erhalten werden. Eine als Substanz X bezeichnete geringe Fraktion mit dem  $R_f$ -Wert der Colamin-Kephaline (Dünnschicht-Chromato-

gramm) enthielt weder Phosphor noch Fettsäuren. Eine Kontroll-Untersuchung eines menschlichen Gehirnes, dessen eine Hälfte gefroren, dessen andere Hälfte mit Formol eine Woche aufbewahrt worden war, führte hinsichtlich der meisten Ergebnisse zu keinen Unterschieden. In dessen enthielt auch hier der Formol-fixierte Anteil keine Colamin-Kephaline. Die Fraktion der neutralen Lipide war geringer als beim nichtfixierten Gehirn, die Fraktion der sauren Lipide aber um einen etwa den Colamin-Kephalinen entsprechenden Betrag höher.

Tabelle 6. *Prozentuale Zusammensetzung der freien Fettsäuren (FFA) aus der Fraktion der sauren Lipide*

C-Zahl	Grosshirn Rinde	Mark	Zwischenhirn	Kleinhirn	Pons
14:0	1,8	1,7	2,7	2,1	0,7
15:0	0,2	0,5	0,5	<0,1	0,2
16:0	35,3	23,7	39,6	27,5	22,3
16:1	4,3	5,4	4,6	6,6	4,2
17:0	0,4	0,3	0,5	0,5	0,3
17:1	0,4	0,5	0,5	0,2	0,8
18:0	31,0	16,7	22,1	27,0	19,9
18:1	23,6	39,0	25,6	27,3	40,2
18:2	0,4	<0,1	<0,1	0,2	0,4
20:0	0,4	0,3	0,4	0,2	0,2
20:1	1,8	6,1	3,0	2,1	7,5
20:2	<0,1	1,0	<0,1	0,8	0,7
20:3	0,4	1,0	0,5	1,3	0,7
20:4	<0,1	3,8	<0,1	4,2	1,9

#### SUMMARY

The lipid composition of a whale brain (*Megaptera novae-angliae* BOROWSKY) previously fixed in formol for two years is reported. The Colamine-Kephalines had been destroyed by the fixation procedure but all the other fractions could be isolated from the purified lipids, and we have analysed the fatty acid composition. Cortex and Cerebellum on the one hand and White Matter and Pons on the other hand showed a similar composition. In comparison with human brain striking parallelism was found in some instances, marked differences in others.

Physiologisch-chemisches Institut  
der Universität Basel

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Y. KISHIMOTO & N. S. RADIN, *J. Lipid Res.* 1, 72, 79 (1959); K. C. KOPACZYK & N. S. RADIN, *ibid.* 6, 140 (1965); K. BERNHARD & W. PEDERSEN, *Helv.* 46, 2363 (1963); K. BERNHARD, A. HANY, L. HAUSHEER & W. PEDERSEN, *Helv.* 45, 1786 (1962).
- [2] G. ROUSER, G. KRITCHEVSKY, D. HELLER, E. LIEBER & J. S. O'BRIEN, *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 38, 544 (1961); 40, 425 (1963); J. S. O'BRIEN & G. ROUSER, *J. Lipid Res.* 5, 339 (1964).
- [3] G. PILLERI, *J. Hirnforsch.* (im Druck); *idem*, *Rev. suisse Zool.* (im Druck).
- [4] K. BERNHARD & P. LESCH, *Helv.* 46, 1798 (1963); P. LESCH & S. MEIER, *Klin. Wschr.* 42, 799 (1964); P. LESCH, S. MEIER & K. BERNHARD, *Helv.* 49, 792, 1215 (1966).
- [5] A. N. DAVISON & M. WAJDA, *Biochem. J.* 82, 113 (1962).