

Untersuchungen über die regionale Kationenverteilung im menschlichen Gehirn*

2. Mitt.: Eisen, Kupfer, Calcium und Magnesium

Von

A. Musil, H. Bertha, W. Haas und O. Wawrschinek

Aus dem Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Karl-Franzens-Universität (Vorstand Prof. Dr. A. Musil) und dem Neurohistologischen Laboratorium der Universitäts-Nervenklinik (Vorstand Prof. Dr. H. Bertha)
Graz

(Eingegangen am 12. Januar 1962)

Es wird eine neue Arbeitsmethodik beschrieben, die es gestattet, die Elemente Eisen, Kupfer, Calcium und Magnesium in verschiedenen anatomisch charakterisierten Gehirngebieten quantitativ zu bestimmen.

Methodik

Die Präparation der Gehirne und die Excision der zur Untersuchung gelangenden Zentren wurden auf die gleiche Weise durchgeführt, wie in einer vorangegangenen Arbeit¹ beschrieben wurde.

Für die Mineralisierung wurden Platintiegel verwendet. Die eingewogene Probe wurde mit einem Tropfen konzentrierter Salpetersäure befeuchtet und zur Vertreibung der aus den Chloriden freigemachten Salzsäure über dem Bunsenbrenner erhitzt. Die Mineralisierung erfolgte hierauf im Glühofen, dessen Temperatur langsam auf 700°C gesteigert wurde. Diese Temperatur wurde 3—4 Stdn. beibehalten und der Tiegel hierauf langsam abgekühlt. Mit der resultierenden Salzsäure wurde nach Einwaage von 50 mg Natrium-Kaliumcarbonat (p. a., Merck) mit dem Bunsenbrenner der Aufschluß durchgeführt. Nach Abkühlung der Schmelze wurde diese mit 1 ml Salzsäure (1:1) gelöst und gelinde erwärmt. Nach dem Abkühlen der Lösungen wurden diese in 10 ml-Meßkölbchen

* Herrn Prof. Dr. A. Zinke zum 70. Geburtstag gewidmet.

¹ H. Bertha, A. Musil, W. Haas und O. Wawrschinek, Mh. Chem. **93**, 118 (1962).

übergeführt und mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt; aliquote Teile wurden der spektrophotometrischen Bestimmung des Eisens und des Kupfers, sowie der volumetrischen Bestimmung des Calciums und des Magnesiums zugeführt.

Bestimmung des Eisens

Die für die vorliegende Problemstellung günstige Eisenbestimmung war die spektrophotometrische mit Ammoniumrhodanid in acetonischer Lösung^{2, 3}. Das Absorptionsmaximum des Eisenrhodanid-Komplexes liegt bei 480 m μ . Gleichzeitig anwesendes Kupfer(II) bildet einen gelbgefärbten Komplex mit einem Maximum bei 380 m μ . Um diese Störung auszuschalten, wurde der Eisenrhodanidkomplex bei 600 m μ gemessen, wo der Kupferkomplex keine nennenswerte Absorption zeigt.

Zur Herstellung der Reagenslösung wurden 20 g Ammoniumrhodanid in einer Mischung von 250 ml bidestilliertem Wasser und 250 ml Aceton gelöst. Zur Aufstellung der Eichkurve wurden 2 ml Reagenslösung und 1 ml einer salzsauren Eisenlösung in der 10,00 mm-Küvette gemischt und nach ca. 1 Min. bei 600 m μ die Extinktion mit Hilfe des Spektrophotometers PMQ II der Fa. Zeiss gemessen. In dem Bereich von 1—10 μ g Eisen pro ml war das *Lambert-Beersche* Gesetz erfüllt. Eine Beeinflussung der Extinktion des Eisenkomplexes durch die bei den zu analysierenden Gehirnproben anwesenden Fremdionen konnte nicht festgestellt werden.

Die Durchführung der Eisenbestimmung erfolgte in der gleichen Weise wie bei der Aufstellung der Eichkurve. Es sind von insgesamt 417 durchgeführten Analysen einige Werte in Tab. 1 angeführt. Der durchschnittliche Eisengehalt beträgt 32,5 μ g Fe/100 mg Trockensubstanz.

Bestimmung des Kupfers

Die spektrophotometrische Bestimmung des Kupfers wurde mit dem von *W. Haas* und *P. Winterstein*⁴ angegebenen Di-Ammoniumsalz der Carboxymethyl-dithiocarbaminsäure durchgeführt.

Als Reagenslösung wurde eine 0,001 m wässrige Lösung verwendet. Das Absorptionsmaximum des gelben Kupferkomplexes wurde bei 420 m μ festgestellt. Die bei dieser Wellenlänge aufgestellte Eichkurve ist in dem Bereich von 0,1—2,0 μ g Kupfer eine Gerade. Es wurden 2 ml des Kupferstandards mit 1 ml Reagenslösung in der 10,00 mm-Küvette gemischt und nach ca. 1 Min. die Extinktion gemessen. Als Vergleichslösung diente eine Mischung von 2 ml verd. Salzsäure und 1 ml Reagenslösung. Eine Beeinflussung der Extinktion des Kupferkomplexes durch die Anwesenheit der 100fachen Menge Natrium und Kalium, sowie der 50fachen Menge Aluminium, Calcium, Magnesium und Eisen wurde nicht festgestellt.

² *A. K. Babko* und *W. Ss. Kodenskaja*, Betriebs-Lab. [russ.] **16**, 643 (1950); Chem. Abstr. **45**, 974 g (1951).

³ *R. E. Kitson*, Z. anal. Chem. **22**, 664 (1950).

⁴ *W. Haas* und *P. Winterstein*, Mikrochim. Acta [Wien] **1961**, 787.

Die Ausführung der Kupferbestimmung erfolgte durch Vermischen von 2 ml der Stammlösung mit 1 ml Reagenslösung, wie bei der Aufstellung der Eichkurve angegeben. In Tab. 1 sind einige Werte der 417 durchgeführten Kupferanalysen angegeben. Der durchschnittliche Kupfergehalt beträgt 2,2 μg Cu/100 mg Trockensubstanz.

Bestimmung des Calciums und Magnesiums

Diese beiden Elemente wurden volumetrisch mit 0,001 m ÄDTA bestimmt. Die Begleitelemente Eisen und Aluminium wurden mit Triäthanolamin und das Kupfer mit festem Kaliumcyanid maskiert.

Als Indikatoren fanden Calconcarbonsäure für Calcium und Eriochromschwarz T für Magnesium Verwendung.

Zur Feststellung des Blindwertes wurden 50 mg Natrium-Kaliumcarbonat, entsprechend der beim Aufschluß verwendeten Menge, mit 1 ml HCl (1:1) umgesetzt und in einem Maßkölbchen auf 10 ml aufgefüllt. Mit 2 ml dieser Lösung wurde eine Calciumtitration durchgeführt; die ergab einen Blindwert von 0,28 ml 0,001 m ÄDTA. Die Calciumbestimmung wurde wie folgt durchgeführt: 2 ml der salzsauren Stammlösung wurden mit 5 ml 50proz. KOH und zur Maskierung des Kupfers mit einigen Kriställchen festem KCN versetzt. Nach weiterem Zusatz von 10 Tropfen 1molarem Triäthanolamin wurde mit 20 ml bidestilliertem Wasser verdünnt. 5 Tropfen einer Lösung von 0,2 g Calconcarbonsäure in 50 ml Methanol ergaben eine rotviolette Färbung, die mit 0,001 m ÄDTA nach reinblau titriert werden konnte.

In Tab. 1 sind einige Werte der 200 durchgeführten Calciumtitrationen nach Abzug des Blindwertes angeführt. Der durchschnittliche Calciumgehalt beträgt 49 μg /100 mg Trockensubstanz.

Die Bestimmung des Magnesiums erfolgte ebenfalls mit 0,001 m ÄDTA in mit Ammoniak-Ammoniumchlorid gepufferter Lösung. Calcium wurde bei dieser Titration mitbestimmt.

Auch bei dieser Titration konnte ein Blindwert von 0,28 ml 0,001m ÄDTA-Lösung festgestellt werden. Zur Titration gelangten 2 ml der Analysen-Stammlösung, die mit 2 ml Pufferlösung, einigen Kriställchen KCN und 10 Tropfen 1-molarer Triäthanolaminlösung versetzt waren. Nach Verdünnen mit 20 ml bidestilliertem Wasser und Zugabe einer kleinen Spatelspitze Indikator (Eriochromschwarz T—Natriumchlorid 1:200) wurde die rotviolette Lösung nach reinblau titriert.

Nach Abzug der Blindwertes konnte der Magnesiumgehalt berechnet werden und es sind in Tab. 1 einige Werte von den 200 durchgeführten Titrationen angegeben. Der durchschnittliche Magnesiumgehalt beträgt 62 μg /100 mg Trockensubstanz.

Diskussion der Ergebnisse

Aus den in Tab. 1 zum Teil wiedergegebenen Analysenwerten geht hervor, daß der Eisengehalt der Hirnrinde auffallende regionale Unterschiede zeigt. Am eisenreichsten ist die Stirnhirnrinde im Bereich der

vorderen Zentralwindung (FA γ), die Inselrinde im Felde IA 1 und die Parietalarinde im Felde PF. Die Benennung der untersuchten Regionen der Hirnrinde erfolgte nach der arealen Hirnkarte von *v. Economo*⁵. Den niedrigsten Eisenwert finden wir im Bereiche des Sprachzentrums, entsprechend dem Felde FCBm, und in der Calcarina. Die Eisenwerte der subcorticalen Gebiete sind entsprechend den Untersuchungen von

Tabelle 1*. Gehirnzentrum $\mu\text{g}/\text{pro } 100 \text{ mg}$ Trockensubstanz

	Fe	Cu	Ca	Mg
FA.....	30,6	2,1	68,0	71,0
FC.....	28,0	2,0	37,8	43,2
FCBm.....	24,0	1,1	79,1	98,1
IA 1.....	57,0	2,1	53,0	69,0
PC.....	43,0	1,8	48,2	55,0
PF.....	49,0	4,1	72,0	79,0
OC.....	38,1	2,1	43,4	56,1
Thalamus.....	25,8	1,1	39,1	46,4
Pons.....	7,2	0,8	14,5	46,1
Olive.....	14,1	3,3	50,6	87,5
Nucleus ruber.....	17,6	2,7	43,4	44,9
Nucleus niger.....	50,5	3,9	23,6	83,9
Nucleus caudatus.....	42,1	3,9	53,5	47,2
PC.....	45,2	2,7	43,2	59,0
LA.....	33,8	2,4	59,1	65,5
LC 2.....	39,2	1,9	40,8	72,6
LD.....	35,0	1,8	47,6	68,8
Calcarina sin.....	37,6	2,3	77,8	105,0
Calcarina dex.....	25,5	4,2	83,0	91,2
FDA.....	21,0	1,2	89,2	129,7
FA γ	61,2	1,9	42,6	85,6
Putamen sin.....	56,0	6,2	44,1	84,5
Putamen dex.....	57,9	5,4	38,6	69,0

* Bezeichnung der Hirnggebiete nach *v. Economo*.

*Spatz*⁶ hoch. Auffallend ist nun, daß im nucleus ruber und in der Olive gegenüber anderen Teilen des Stammhirnes der Eisengehalt als niedrig bezeichnet werden kann. Die Brücke gehört zu den mineralärmsten Teilen des Gehirnes. Eine signifikante Relation zwischen den Elementen Eisen und Kupfer besteht insofern nicht, als etwa im Felde FA γ bei sehr hohem Eisenwert ein Kupferwert von nur 1,9 μg Cu/100 mg Trockensubstanz auftritt, während bei den niedrigen Eisenwerten des nucleus ruber und der Olive ein relativ hoher Kupfergehalt festgestellt wurde. Der niedrigste Kupferwert findet sich in der Sprachrinde.

⁵ *C. v. Economo*. Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen, Springer-Verlag, 1925.

⁶ *H. Spatz*, Z. ges. Neurol. Psychiatrie 77, 261 (1923).

Die Calciumwerte sind im gesamten Gehirn gegenüber den Eisen- und Kupferwerten auf das Doppelte bis Vierfache erhöht. Im allgemeinen aber bewegen sich die Calciumwerte zwischen 14,5 und 89,2 $\mu\text{g Ca}/100\text{ mg}$ Trockensubstanz. Die niedrigsten Werte treten auch hier in der substantia nigra und im pons auf.

Noch höher als die Calciumwerte erscheinen die Magnesiumwerte, die bis zu 129,7 $\mu\text{g Mg}/100\text{ mg}$ Trockensubstanz in der Stirnhirnrinde betragen. Es zeigt sich auch hier, daß in verschiedenen Hirngebieten eine unterschiedliche Kationenverteilung vorliegt. Die niedrigsten Werte werden hier im Felde FB und im Felde OA 2 gefunden, während der Höchstwert für Magnesium im Gebiet FDA festgestellt werden konnte.

Trotz der Vielzahl der bereits vorliegenden Analysenwerte können noch keine bindenden Schlüsse auf die funktionelle Bedeutung dieser Sachverhalte gezogen werden.