

Die Corpora amylacea im menschlichen Gehirn*

Heinz-Peter Schwalbe und Günter Quadbeck

Institut für Pathochemie und Allgemeine Neurochemie am Pathologischen Institut
der Universität Heidelberg

Eingegangen am 9. August 1974

Corpora Amylacea in the Human Brain

Summary. 130.5 mg of almost pure corpora amylacea was isolated from lyophilized tissue of 35 human brains obtained by autopsy. Staining showed this material to be homogenous. The greater part of this material is composed of carbohydrates, whereas the protein- and lipid content is small. With regard to composition, one can take for granted that this material is different from amyloid and from the corpora amylacea of the prostatic gland. It may be assumed that corpora amylacea of the brain are caused by the glucose requirement of the brain being reduced, while the supply of glucose for the brain is normal.

Zusammenfassung. Aus gefriergetrocknetem Hirngewebe von 35 Verstorbenen wurden 130,5 mg praktisch reiner Corpora amylacea isoliert. Diese erwiesen sich färberisch als einheitlich. In ihrer Zusammensetzung überwiegt der Kohlenhydratanteil, während der Protein- und Lipidanteil relativ klein sind. Aufgrund ihrer Zusammensetzung unterscheiden sie sich eindeutig vom Amyloid, aber auch von den Corpora amylacea der Prostata. Für die Entstehung der Corpora amylacea im Gehirn wird als wesentliche mitbestimmende Ursache ein gegenüber dem Glukoseangebot verminderter Glukosebedarf des Gehirns diskutiert.

Im Jahre 1839 beschrieb J. E. Purkinje (1839) im menschlichen Gehirn eine „Gattung klar durchsichtiger, runder oder rundlich eckiger, dem Aussehen nach den Amylokoknern ähnlichen Körperchen von wachsartiger Konsistenz“. Er hatte diese im Bereich des Thalamus und der Lamina cribrosa gefunden. R. Wagner (1854) schlug für diese Körperchen die Bezeichnung *Corpuscula amylacea* vor, während A. Kölliker (1850) die Bezeichnung *Corpora amylacea* (C.a.) einführte, eine Bezeichnung, die allgemein akzeptiert wurde. Diese Bezeichnungen, wie auch die ersten Beschreibungen sollten auf das färberische Verhalten dieser Körperchen, die sich ähnlich wie Stärke verhielten, hinweisen. Auch R. Virchow (1854, 1858) hat sich schon früh mit den C.a. befaßt und aufgrund des färberischen Verhaltens bei der Reaktion mit Jod und mit Jod-Schwefelsäure eine nähtere Verwandtschaft mit der Zellulose angenommen. Er hat die Ablagerung der offensichtlich stoffwechsel-inaktiven Körper mit der Zelluloseablagerung in pflanzlichen Organismen verglichen und die Ablagerung dieser Teilchen im alternden Gehirn als eine „Verholzung“ des Gehirns bezeichnet (Virchow, 1858).

Obwohl schon Virchow auf den Unterschied zwischen den C.a. und dem Amyloid frühzeitig hingewiesen hatte und obwohl Friedreich und Kekulé bereits 1859 die Eiweißnatur von Amyloid eindeutig chemisch bewiesen hatten, werden die C.a. in der Literatur immer wieder einmal mit dem Amyloid oder auch den Corpora amylacea der Prostata, deren Keratin-ähnlicher Aufbau inzwischen nachgewiesen wurde (G. R. Schrodt, M. Murry, 1966), in einen Topf geworfen.

* Herrn Professor Dr. Wilhelm Doerr zum 60. Geburtstag gewidmet.

Färbungen und histochemische Reaktionen haben in vielen Fällen wertvolle Aufschlüsse über die Natur morphologischer Strukturen und ihrer reaktiven Gruppen gegeben. Für eine überzeugende stoffliche Aufklärung eines chemischen Körpers sind sie aber nicht ausreichend. Hierfür ist eine Isolierung frei von Begleitstoffen und eine anschließende chemische Analyse allein wirklich beweisend. Während Friedreich und Kekulé (1859) ein noch relativ unreines Amyloid untersuchten, konnte Cohen (1966) ein im elektronenoptischen Bild reines und einheitliches Amyloid isolieren und analysieren.

Während die vorliegenden Untersuchungen bereits liefen, gelang es M. Sakai *et al.* (1969), aus menschlichem Gehirn Material der C.a. zu isolieren und chemisch zu charakterisieren. Da Sakai von Formol-fixiertem Material ausging und bei der Aufarbeitung das Material mit Pepsin verdaute, erschien es uns nicht ausgeschlossen, daß das erhaltene Material nur eine Teilfraktion der genuinen C.a. ausmachte, wobei eine sekundäre Veränderung nicht ausgeschlossen erschien. Das von Sakai *et al.* erhaltene Material bestand zum überwiegenden Teil aus Glukose und erwies sich im Infrarotspektrum dem Amylopektin recht ähnlich. Es wäre daher daran zu denken, daß die Bildung von C.a. Folge eines „Metabolic errors“ sei. Es erschien uns notwendig, trotz dieser bereits vorliegenden Befunde C.a. aus menschlichem Gehirn in möglichst genuiner Form zu isolieren und dann Einblick in ihren Aufbau zu gewinnen.

Experimenteller Teil

Bei unfixierten Gehirnen von 35 Verstorbenen wurde bei beiden Hemisphären ein 4 cm dicker Schnitt vom Ansatz des Temporallappens bis zum Occipitalpol gelegt. Die weichen Hämäte wurden vorsichtig abpräpariert und die Gefäße so weitgehend wie möglich entfernt. Das noch vorhandene Blut wurde mit kaltem dest. Wasser abgewaschen und dann die Hirngewebsstücke bis zur weiteren Verarbeitung bei -26° aufbewahrt. Das Todesalter der Verstorbenen, von welchen das Hirngewebe gewonnen wurde, lag bei 29 Fällen über 70 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 75,1 Jahren. Bei 6 Verstorbenen handelte es sich um vorzeitig gealterte Patienten, die im Alter zwischen 63 und 71 Jahren verstorben waren und bei denen im histologischen Bild der Hirnrinde besonders reichlich C.a. nachgewiesen wurden (Abb. 1).

Das gesammelte tiefgefrorene Hirngewebe wurde portionsweise aufgetaut und unter Eiskühlung zuerst grob zerkleinert und ebenfalls unter Kühlung anschließend im Ultra-Turax Homogenisator für 10 min bei 20000 U/min homogenisiert. Der so gewonnene Hirnbrei wurde im Gefrier-Trocknungsverfahren getrocknet, wobei das Material während des Trocknungsvorganges mehrfach mechanisch zerkleinert wurde, um so eine möglichst gleichmäßige Trocknung sicherzustellen. Das getrocknete feinpulvrige Material wurde portionsweise mit gekühlter 50%iger Saccharose-Lösung (12,5 ml auf 1 g Trockengewicht) homogenisiert und der fraktionierten Zentrifugation mit steigenden Saccharose-Konzentrationen unterworfen, wobei zuletzt in übersättigten Lösungen gearbeitet wurde. Die Anreicherung und Isolierung ist in Tabelle 1 dargestellt. Die Anreicherung wurde kontrolliert durch Abfiltration kleiner Materialmengen auf dem Rechteck-Filtriergerät mit Millipore-Platten (Poredurchmesser der Filter 5—8 μ). Das Filter wurde direkt gefärbt (Nissl), entwässert und mit Xylol optisch durchlässig gemacht. Unmittelbar danach wurde mit Depex eingedeckt. Durch die vielen in Tabelle 1 dargestellten Fraktionierungsgänge treten zwangsläufig Materialverluste auf. Immerhin konnte mit dem angegebenen Verfahren aus 806,2 g Trockenhirn-Pulver eine Menge von 130,5 mg trockene C.a. gewonnen werden, die im mikroskopischen Bild weitgehend frei von Verunreinigungen waren.

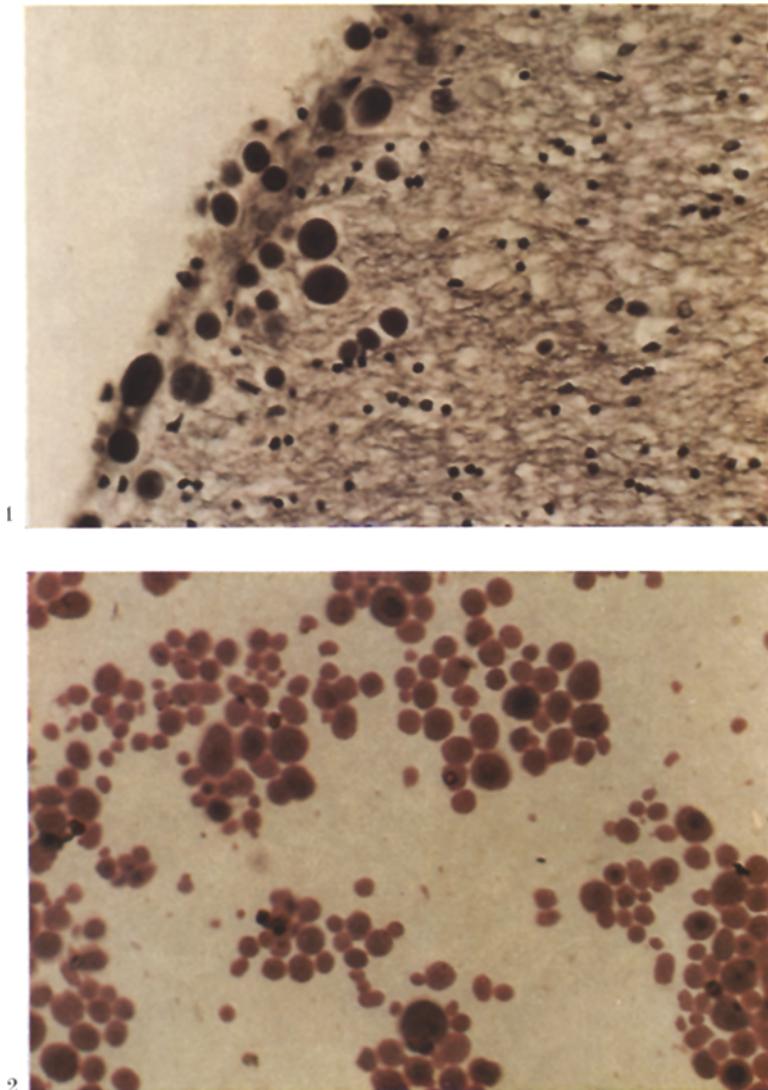


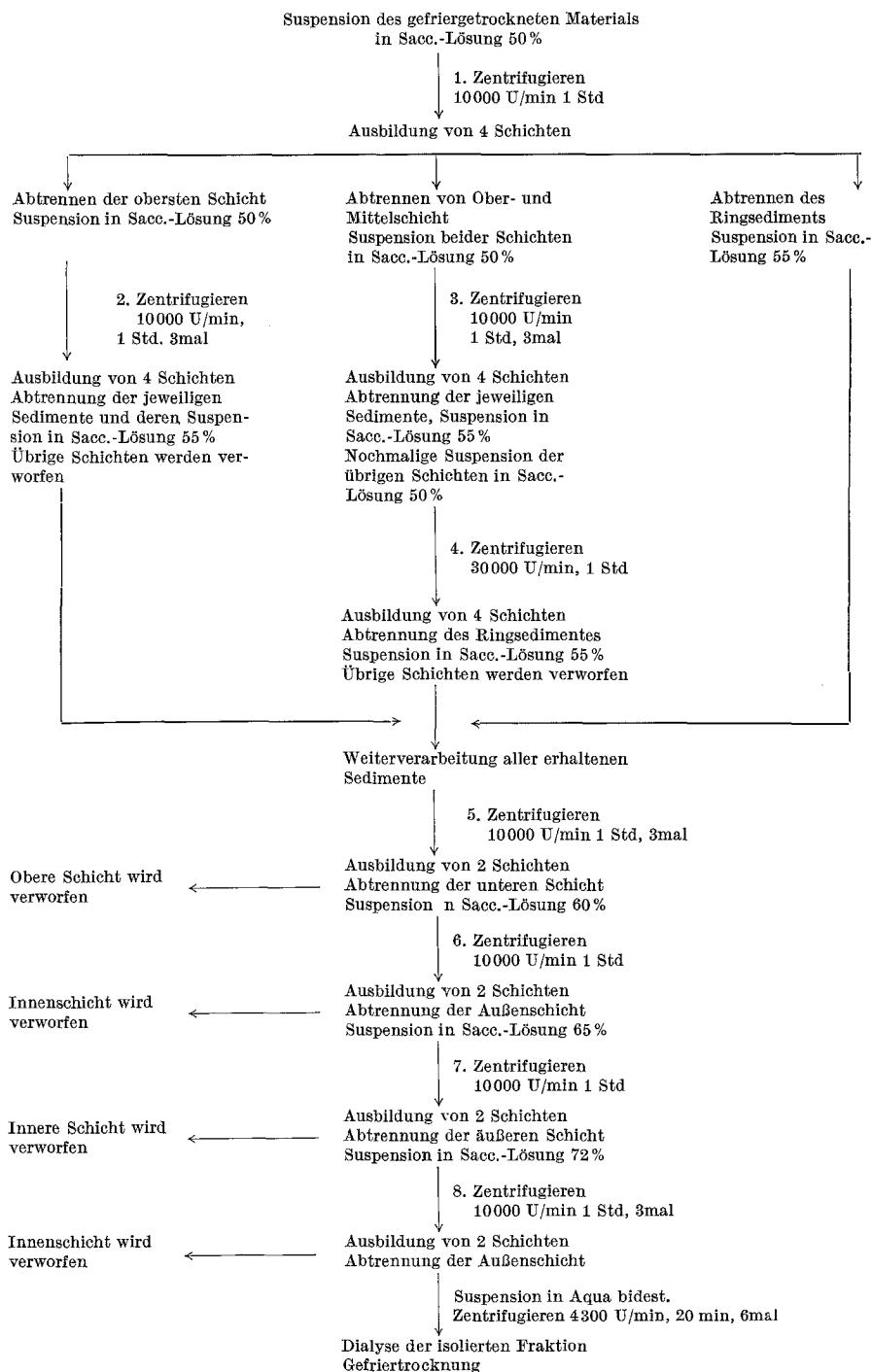
Abb. 1. Corpora amylacea in situ (subependymäre Lage). Fe-Hämatoxylin (250×)

Abb. 2. Isolierte Corpora amylacea. Millipore-Filter. PAS-Färbung (250×)

Die so gewonnenen C.a. färbten sich mit Lugolscher Lösung je nach Größe hell bis dunkelbraun, mit der Bestschen Färbung hellrot und bei der PAS-Färbung nach McManus tiefrot (Abb. 2).

Da das so gewonnene Material noch vereinzelt Gewebsteile enthielt, erschien eine weitere Reinigung notwendig. Da die C.a. in heißem Wasser löslich sind, wurden diese nach Auswaschen anhaftender Saccharose-Reste in heißem Wasser

Tabelle 1. Isolierungs-Schema ($10000 \text{ U/min} = 12000 \times g$;
 $30000 \text{ U/min} = 100000 \times g$)



aufgenommen und 90° bei dieser Temperatur gehalten. Anschließend wurde durch eine Glasfritte (3G4) filtriert und damit die nicht wasserlöslichen Gewebsreste entfernt. Das Filtrat wurde bei 30° im Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt. Das verbleibende Material war amorph und von hell- bis dunkelgelber Farbe. Es zeigte einen Zersetzungspunkt von 276°. Die weiteren Analysen wurden mit diesem Material durchgeführt.

Die organische Elementar-Analyse ergab:

34,54% Kohlenstoff,
5,39% Wasserstoff,
2,29% Stickstoff.

Der Kohlenhydrat-Anteil wurde nach Dische (1947) und der Lipidanteil nach Zöllner (1965) gemessen. Der Proteinanteil läßt sich mit der für die vorliegende Fragestellung ausreichenden Genauigkeit aus dem Stickstoffanteil errechnen. Das Material erwies sich als Schwefel- und Phosphor-haltig. Natrium und Calcium sowie Kalium und Magnesium wurden durch Atomabsorptions-Spektrographie bestimmt. Aufgrund der so gewonnenen Daten (Schwalbe, 1971) ergibt sich für die von uns isolierten C.a. des menschlichen Gehirns die folgende Zusammensetzung:

Kohlenhydrate	53 %
Protein	14 %
Lipide	10,1 %
Natrium	7,2 %
Kalium	5,4 %
Calcium	1,8 %
Magnesium	0,9 %
Rest	7,6 %

Diskussion der Ergebnisse

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse entsprechen die C.a. des menschlichen Gehirns in ihrer Zusammensetzung einem Glyko-lipo-proteid, in welchem die biologischen Alkali- und Erdalkali-Ionen offensichtlich recht fest gebunden sind. Bei dieser Bindung dürften Phosphat- und Sulfatgruppen eine wesentliche Rolle spielen. Durch diesen Gehalt an Alkalien und Erdalkalien dürfte der relativ hohe Aschengehalt bedingt sein. Bemerkenswert ist der hohe Kohlenhydrat-Anteil, der die C.a. eindeutig vom Amyloid unterscheidet, in welchem Cohen (1966) bei einem Proteinanteil von 95,4% nur einen Kohlenhydratgehalt von 4,6% nachweisen konnte. Sakai *et al.* (1969) fanden in ihrem aus C.a. isolierten Material einen Kohlenhydratanteil von 87,9%. Da diese Autoren bei ihrem präparativen Vorgehen proteolytische Fermente einsetzten, kann wohl mit Recht angenommen werden, daß sie vorwiegend den Kohlenhydratanteil der C.a. isoliert haben, während der Rest bei der Aufarbeitung verloren ging. Hierdurch dürften die unterschiedlichen Ergebnisse plausibel zu erklären sein.

Wenn die C.a. des Gehirnes vorwiegend aus Kohlenhydraten bestehen, muß an ihrer Genese zwangsläufig der Kohlenhydratstoffwechsel eine wesentliche kausale Rolle spielen. Vor 9 Jahren (Quadbeck, 1966) war die Vermutung geäußert worden, daß bei einem altersbedingten verminderten Glucosebedarf des Gehirns bei erhaltenem Glucosetransport durch die Blut-Hirnschranke ein Anstau von Glucose im Gehirn entstehen könne. Als Folge hiervon könne es dann zu einer Ablagerung vorwiegend glucosehaltiger Polymerisate in Form der C.a. kommen. Quadbeck und Nickel (1964) konnten zeigen, daß der Glucosetransport aus dem Blut ins Gehirn über eine höherpolymere Zwischenstufe verläuft. Wie Munz (1966) zeigen konnte, sind Substanzen, die mit den üblichen Glykogen-Extraktionsverfahren aus Hirngewebe erhalten werden können, immer Glykoproteide, so daß Glykogen im eigentlichen Sinne im Gehirn praktisch nicht vorzukommen scheint. Die hier gefundenen analytischen Ergebnisse stehen mit der Vorstellung, daß der Glucosetransport ins Gehirn über Glykoproteide oder Glykolipoproteide verläuft, in guter Übereinstimmung. Die Vorstellung, daß ein Mißverhältnis zwischen Glucoseangebot an das Gehirn und Glucosebedarf eine wesentliche Rolle bei der Genese der C.a. im Gehirn spielt, konnte noch gestützt werden durch Beobachtungen von Hoyer und Jakob. Diese fanden bei Altersdementen, bei denen zu Lebzeiten eine Hirnstoffwechsel-Untersuchung durchgeführt worden war, post mortem immer dann erhöhte Ablagerung von C.a., wenn die Glucoseaufnahme ins Gehirn pathologisch gesteigert war, während bei solchen Patienten, bei denen die Glucoseaufnahme vermindert war, keine C.a. in nennenswerter Menge nachzuweisen waren.

Nachdem Sakai *et al.* (1969) in ihrem aus C.a. des Gehirns gewonnenen Material als einzigen Kohlenhydrat-Bestandteil Glucose gefunden haben, andererseits aber Glukose praktisch das einzige Kohlenhydrat ist, das vom Gehirn zur Energiegewinnung genutzt wird, dürfte die hier vorgetragene Hypothese über den Entstehungsmechanismus der C.a. der Wirklichkeit näher kommen, als die bisher vorgetragenen anderen Hypothesen, die von Schwalbe (1971) ausführlich diskutiert wurden. Abbauprozesse von Nervengewebe scheiden jedenfalls aus, da in einem solchen Falle die Anwesenheit von Galaktose erwartet werden müßte.

Herrn Professor Dr. W. Doerr, Direktor des Pathol. Inst. der Univ. Heidelberg, und Herrn Obermedizinalrat Dr. H. Jakob (Psychiatr. Landeskrankenhaus Wiesloch) haben wir für die Überlassung des Sektionsmaterials zu danken. Fr. Kienle und Fr. Neuchel vom Inst. f. Neuropathologie, Heidelberg, haben wir für die Anfertigung der histologischen Präparate zu danken.

Literatur

Cohen, A. S.: Preliminary chemical analysis of partially purified amyloid fibrils. In: Faber, E., and Magee, P. N., Biochemical pathology. Baltimore: William & Wilkins Company 1966

Dische, Z.: A new specific color reaction of hexuronic acids. J. biol. Chem. **167**, 189 (1947)

Friedreich, N., Kekulé, A.: Zur Amyloidfrage. Virchows Arch. path. Anat. **16**, 50 (1859)

Hoyer, S., Jakob, H.: Persönliche Mitteilungen

Munz, E.: Untersuchungen über das Hirnglykogen. Inaugural-Dissertation, Saarbrücken 1966

Purkinje, J. E.: Bericht über die Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Prag 1839, Vortrag Nr. 17 der Sektion 5 A und B: Plexus chorioidei. Ihr körniger Überzug, S. 180

Quadbeck, G.: D-Glucose und verwandte Kohlenhydrate in Neurologie und Psychiatrie. In: Bartelheimer, G., Heyden, W., und Thorn, W., D-Glucose in Medizin und Biologie, S. 879. Stuttgart: Ferdinand Enke 1966

Quadbeck, G., Nickel, J.: Über den Glucosetransport aus dem Blut ins Gehirn. Bull. Soc. chim. biol. **46**, 206 (1964)

Sakai, M., Austin, J., Witmer, F., Trueb, L.: Studies of Corpora amylacea; isolation and preliminary characterization by chemical and histochemical techniques. Arch. Neurol. (Chic.) **21**, 526 (1969)

Schrodt, G. R., Murry, M.: The keratin structure of Corpora amylacea. Arch. Path. **82**, 518 (1966)

Schwalbe, H. P.: Die Corpora amylacea des menschlichen Gehirns, ihre Isolierung und chemische Untersuchung. Inaugural-Dissertation, Heidelberg 1971

Virchow, R.: Über eine im Gehirn und Rückenmark des Menschen aufgefundene Substanz mit der chemischen Reaktion der Zellulose. Virchows Arch. path. Anat. **6a**, 135 (1854)

Virchow, R.: Zur Zellulosefrage. Virchows Arch. path. Anat. **6b**, 416 (1854)

Virchow, R.: Zur Zellulosefrage. Virchows Arch. path. Anat. **8**, 140 (1858)

Wagner, R.: Neurologische Untersuchungen. Göttingen 1854

Zöllner, N., Eberhagen, D.: Untersuchungen und Bestimmung der Lipoide im Blut. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965

Prof. Dr. Dr. G. Quadbeck
Institut für Pathochemie und
Allgemeine Neurochemie
der Universität Heidelberg
D-6900 Heidelberg
Postfach 104 340
Bundesrepublik Deutschland