

Ein bisher kaum bekanntes gliogenes Melanin des Gehirns („Cerebellares Gliamelanin“)

G. Ule, H. Berlet, D. Haag und H. Riedl

Zentrum Pathologie der Universität, Im Neuenheimer Feld 220–221, D–6900 Heidelberg 1, Bundesrepublik Deutschland

A Formerly Little Known Melanin of Glial Origin in the Brain (“Cerebellar Glial Melanin”)

Summary. Melanosis of the dentate nucleus is an extremely rare condition in which pigment is formed within the cytoplasm and cytoplasmic processes of astrocytes in the dentate nucleus and the cerebellar granular cell layer. The pigment occurs as irregular polygonal structures of rather homogeneous appearance unlike granular neuromelanin located within neurons of the substantia nigra. The diameter of these pigment masses may reach 30 μm or more. Their absorption of visible light increases steadily towards the shorter wavelengths, and the material is virtually opaque in the violet and ultraviolet region, resembling melanin in this respect. Since the absorption spectrum described by Rabl exhibited a small peak at 525 nm, he regarded the pigment as the hemoglobin derivative pentdyopent. We were unable, however, to confirm this observation. On X-ray diffraction the pigment produced a sharp reflex at 4.93 Å as did synthetic melanin prepared from dopamine (but not melanin prepared from serotonin). These observations supported the assumption made by others based on histochemical evidence, that the pigment in the dentate nucleus may belong to the group of melanins. Presumably the glial melanin somehow arises from the metabolic pathway leading to DOPA. An astrocytic site of melanin formation other than in the cerebellum has not been previously described, and this melanin differs in appearance from the granular neuromelanin found in neurons in the substantia nigra. Thus “cerebellar glial melanin” contrasts with neuromelanin of the substantia nigra both in its site of formation and in its morphology.

The underlying cause of the glial melanin formation in the cerebellum is not known. There are six cases in the world literature, 5 females and 1 male, ranging in age from 58 to 103 years.

Involutional alterations in metabolism related to endocrine factors may possibly play an important part. To the best of our knowledge cerebellar melanosis is of no clinical relevance.

Key words: Melanin – Glial Melanin – Melanosis of the dentate nucleus – Melanosis cerebelli.

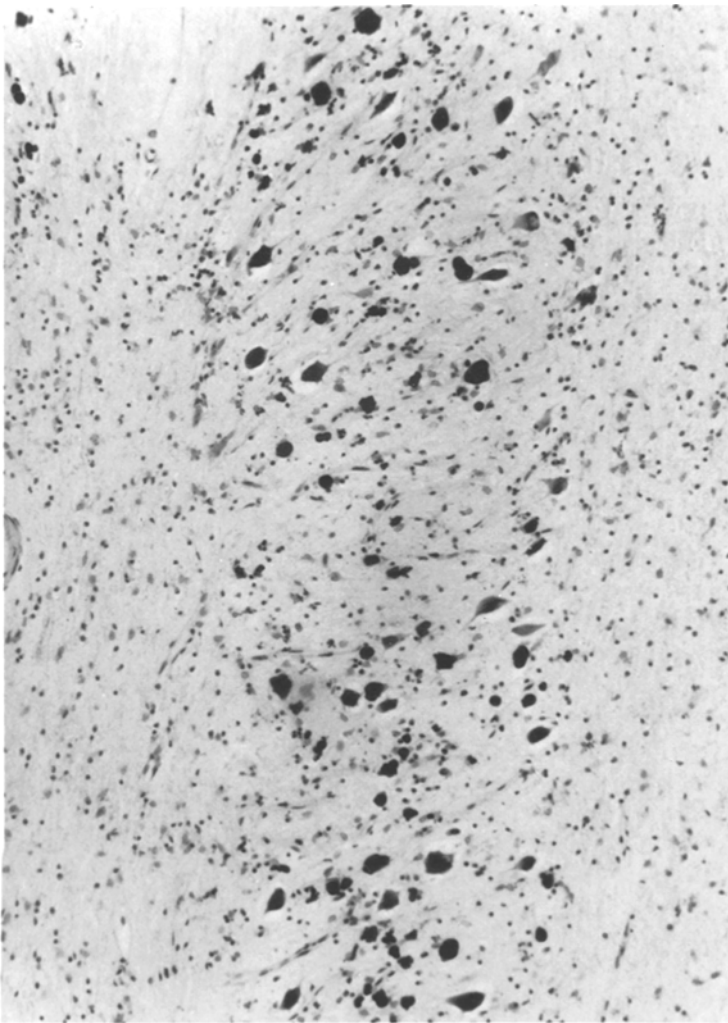


Abb. 1. Melanosis cerebelli (SNr. 105/78): Pigmentschollen im Zahnkern. Nissl 100 \times .

Lipofuscin und Melanin sind 2 Pigmentstoffe, die auch im Zentralnervensystem in bestimmten Arealen und in typischer Weise bestimmten Zellpopulationen zugeordnet vorkommen.

Während Lipofuscin in der zentral-nervösen Glia verschiedener Grisea im höheren Lebensalter einen physiologischen Befund darstellt, ist eine Melaninbildung in Gliazellen bisher nicht bekannt. Lediglich beim Morbus Parkinson und verwandten Krankheitsbildern wird Melanin in Astrocyten und Mikrogliazellen gefunden, dann jedoch als Folge von Phagocytose und Resorption dieses Pigmentes nach Untergang der melaninhaltigen Nervenzellen der S. nigra. Allerdings wurde in bisher 5 Fällen der Literatur bei alten Menschen im Zahnkern und in geringerem Umfang auch in der Körnerzellschicht des Kleinhirns ein

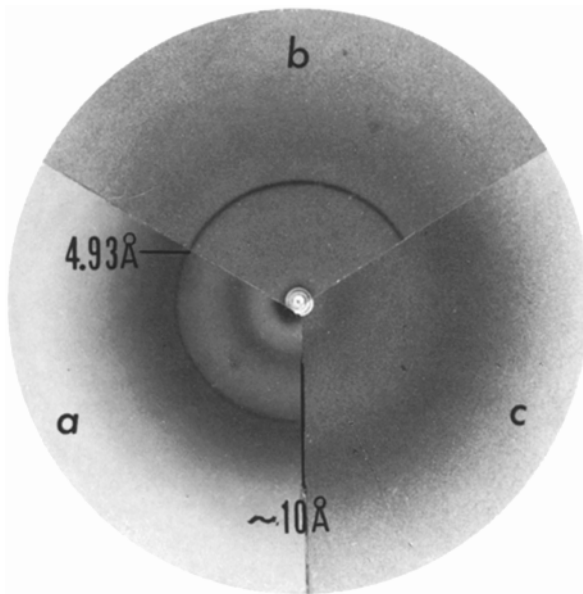


Abb. 2a–c. Röntgenbeugungsdiagramme des Zahnkernpigmentes (**a**), von synthetischem Melanin aus Dopamin (**b**) und aus Serotonin (**c**). Vgl. Tabelle 1

schwarzes Pigment beobachtet (Übersicht bei Ule et al.), das offensichtlich – extrem selten und unter bisher ungeklärten Voraussetzungen – in Astrocyten dieser Grisea gebildet wird und dessen Natur strittig ist. Rabl (1955) glaubte dieses von ihm noch lichtmikroskopisch als extracellulär lokalisierte Pigment aufgrund einer Schulter in der UV-Absorptionskurve bei 525 nm als das Hämoglobinderivat Pentdyopent ansprechen zu können. Nach den histochemischen Reaktionen (Affinität zu Silbersalzen, Bleichung durch H_2O_2 und nach Methylierung) zeigt es das Verhalten von Melanin (Hiller, 1941; Singer et al., 1974; Fan et al., 1978). Es ist jedoch nicht feinkörnig wie das Neuromelanin in den Nervenzellen der Substantia nigra, sondern liegt in groben bis über $30\ \mu$ großen, homogen wirkenden Schollen vor, elektronenmikroskopisch lokalisierbar in Astrozyten und deren Fortsätzen. Fan et al. glaubten es zwar ultrastrukturell als Neuromelanin ansprechen zu können, doch läßt das in ihrer Abbildung so bezeichnete Pigment die für Neuromelanin typische dreiphasige Struktur (Moses et al., 1966) vermissen und dürfte unseres Erachtens Lipofuscin darstellen; über die großen Pigmentschollen der Zahnkernmelanose, die sich ultrastrukturell eindeutig vom typischen Neuromelanin durch eine homogenstreuende Matrix mit Bezirken etwas höherer Massendichte von 300 bis 500 Å und das Fehlen randständiger vacuolisierter Lipidpartikel abgrenzen lassen (Ule und Berlet), machen die Autoren keine Angaben. Da sich somit dieses Zahnkernpigment strukturell und nach seinem Bildungsort vom bekannten Typ des nigralen Neuromelanin grundsätzlich unterscheidet, sind angesichts der nur bedingten Spezifität histochemischer Methoden weitere Untersuchungen zur Abklärung der Natur dieses Pigmentes notwendig.

Wir haben das bei einer 74 Jahre alt gewordenen Frau (S. Nr. 105/78) im Zahnkern und in der cerebellaren Körnerzellschicht gefundene schwarze Pigment aus dem formalinfixierten Material zunächst durch Dichtegradientenzentrifugation des Homogenates angereichert und dann in Anlehnung an die Methode von Das et al. (1978) aufgearbeitet (s. Abb. 1). Die Proben wurden mikrospektralphotometrisch sowie mittels Röntgenbeugung untersucht.

Das Absorptionsspektrum der Pigmentschollen zeigt eine bereits im sichtbaren Bereich beginnende, stetig zum Ultravioletten hin zunehmende Absorption. Im violetten und ultravioletten Bereich ist die Substanz praktisch lichtundurchlässig. Der Kurvenverlauf ist mit der von Rabl für Melanin angegebenen Absorption identisch. Das gilt auch für die Befunde an ungefärbten Paraffinschnitten von 5 μ Dicke sowie an Araldit-Semidünnschnitten. Die von Rabl beschriebene Schulter bei 525 nm im Sinne von Pentdyopent haben wir bei zahlreichen Überprüfungen nicht gefunden.

Bei der Röntgenbeugungs-Analyse wurden außer der Pigmentprobe aus dem Zahnkern zum Vergleich auch nach der Methode von Das et al. (1978) dargestelltes Melanin aus Dopamin und Serotonin in Markröhrchen von 0,5 mm \varnothing mit Kiessig-Kammern unter Helium bei Verwendung punktförmig ausgeblendeter Cu-K $_{\alpha}$ -Strahlung und einem Filmabstand von 50 mm untersucht (s. Abb. 2, Tabelle 1).

Tabelle 1

Zahnkern-Pigment (Diagramm 2869):		Melanin aus Dopamin (Diagramm 2929):	
Scharfer Ring bei	4.93 Å	Scharfer Ring bei	4.93 Å
Scharfer Ring (schwach) bei	4.67 Å	Scharfer Ring (schwach) bei	2.85 Å
Diffuser Ring bei	10 Å	Diffuser Ring bei	3.8 Å
Starke diffuse Streuung!		Melanin aus Serotonin (Diagramm 2931):	
		Diffuser Ring bei	14.2 Å
		Diffuser Ring bei	3.8 Å.

Die Übereinstimmung zwischen dem Diagramm des Zahnkernpigmentes und dem des aus Dopamin gewonnenen Melanins ist auffallend; beide zeigen im wesentlichen *einen* Ring bei 4.93 ± 0.1 Å, der auf eine Schichtstruktur hindeutet. Eine ähnliche Interpretation gibt Thathachari (1970), der auch die Existenz verschiedener röntgenographisch unterscheidbarer Melanine erwähnt. Der Bragg-Abstand des von uns gefundenen Reflexes liegt in der Größenordnung der von ihm angegebenen Werte. Aus der kleinen Halbwertsbreite der Ringe ergibt sich, daß es sich hierbei um einen echten Kristallreflex handelt, der eine Substanz anzeigt, die in beiden Präparaten vorhanden ist. Das aus Serotonin gewonnene Melanin weist diesen scharfen Reflex nicht auf; hier lassen sich nur 2 diffuse Ringe bei ≈ 3.8 und ≈ 14.2 Å erkennen. Beide synthetischen Mela-

nine zeigen einen solchen „Flüssigkeitsreflex“ bei $\approx 3.8 \text{ \AA}$. Die in der Zahnkernpigmentprobe beobachtete starke Untergrundschwärzung rührt wahrscheinlich von dem Anteil an Fremdsubstanzen her. Der Eisengehalt der Probe betrug 3,28 mg/g Substanz.

Sowohl die UV-Absorptionskurve wie auch das Röntgenbeugungsdiagramm bestätigen den bereits nach dem Ausfall der histochemischen Reaktionen geäußerten Verdacht, daß es sich bei dem in den Astrocyten des Zahnkernes und der cerebellaren Körnerzellschicht gebildeten, morphisch vom granulären Neuromelanin der Nigrazellen durch die homogen-grobschollige Form deutlich abweichenden Pigment ebenfalls um ein Melanin handelt. Aufgrund der Unterschiede in Struktur und Bildungsort wird dieses Pigment dem „nigralen Neuromelanin“ als „cerebellares Gliamelanin“ gegenübergestellt. Außerhalb dieser beiden Kleinhirnstrukturen ist eine solche gliale Melaninbildung bisher nicht beobachtet worden. Die auffallende Übereinstimmung der Röntgendiagramme von der Zahnkernprobe und dem aus Dopamin gewonnenen Material legt dabei die Vermutung nahe, daß auch das gliogene cerebellare Melanin über den Dopa-Stoffwechsel entsteht.

Die Fähigkeit zur Melaninbildung haben diese Astrogliazellen nur unter bisher noch nicht überschaubaren Bedingungen. Bemerkenswert ist, daß die äußerst seltene Melanose des Zahnkernes und der Kleinhirnrinde bisher lediglich bei Individuen im Alter zwischen 58 und 103 Jahren gefunden wurde und von den bis heute bekanntgewordenen 6 Beobachtungen 5 auf das weibliche Geschlecht entfallen, was auf altersbedingte, endokrin mitbestimmte Besonderheiten des Stoffwechsels hinweisen könnte. Eine pathologische Bedeutung im Sinne eines Krankheitswertes kommt nach unseren bisherigen Kenntnissen dieser Melanose des Kleinhirns nicht zu.

Literatur

- Das, K.C., Abramson, N.B. Katzman, R.: Neuronal pigments: Spectroscopic characterization of human brain melanin. *J. Neurochem.* **30**, 601–606 (1978)
- Fan, K.J., Kovi, J., Duhaney, S.D.: Melanosis of the dentate nucleus: Fine Structure and Histochemistry. *Acta Neuropath. (Berl.)* **41**, 249–251 (1978)
- Hiller, F.: Eine mit örtlicher Pigmentspeicherung einhergehende Kleinhirnatrophie im Greisenalter. *Arch. Psychiat.* **113**, 574–604 (1941)
- Moses, H.L., Ganote, Ch.E., Beaver, D.L., Schuffman, Sh.S.: Light and electron microscopic studies of pigment in human and Rhesus monkey substantia nigra and locus ceruleus. *Anat. Rec.* **155**, 167–184 (1966)
- Rabl, R.: Pigmentablagerungen im Gehirn. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **174**, 15–30 (1955)
- Singer, P.A., Cate, J., Ross, D.G., Netsky, M.G.: Melanosis of the dentate nucleus. *Neurology (Minneapolis)* **24**, 156–161 (1974)
- Thathachari, Y.T.: X-Ray diffraction studies on melanins. *J. invest. Dermat.* **54**, 99 (1979)
- Ule, G., Berlet, H., Haag, D., Riedl, H.: Zur Differenzierung des Pigmentes bei der Melanosis cerebelli. 23. Jahrestag d. Dtsch. Geschellsch. f. Neuropathologie und Neuroanatomie e.V., Bonn, 23.–25. Nov. 1978.
- Ule, G., Berlet, H.: Elektronenmikroskopische und infrarotspektrophotometrische Untersuchungen am glialen Melanin bei Melanosis cerebelli. *Acta neuropath. (Berl.)* (in Vorb.)