

Ueber die anorganischen Gehirnsalze, nebst einer Bestimmung des Nucleins im Gehirn

von Edward G. Geoghegan, aus Dublin.

(Der Redaction zugegangen am 26. November.)

Die Untersuchung und quantitative Bestimmung der Asche des Gehirns ist bis jetzt weit hinter unseren Kenntnissen der anorganischen Bestandtheile anderer Gewebe, z. B. des Blutes zurückgeblieben, ein Zustand, der theils der Schwierigkeit der Untersuchung selbst zuzuschreiben ist, theils mit der unvollkommenen Kenntniss der übrigen Gehirnbestandtheile in Verbindung zu bringen ist. Auch haben die wenigen Analysen, die vor dem Jahre 1868 gemacht sind, durch die Entdeckung der Zusammensetzung des Lecithin von Diakonow (Med.-chem. Untersuchungen von Hoppe-Seyler, Heft 2 u. 3, S. 221 u. 405) ihren Werth fast gänzlich verloren. Die bisher gebrauchten Methoden sind besonders deshalb unzuweckmässig gewesen, weil bei ihnen meistens durch Trocknen bei 100° oder sogar durch Verbrennung das Lecithin zersetzt, die Phosphorsäure des Lecithins zur Asche gerechnet und ferner die Kohlensäure aus ihren Verbindungen mit den Alkalien frei gemacht werden.

Die erste vollständige Aschenanalyse, die wir besitzen, rührt von Breed (Annalen der Chemie, Bd. 82, S. 124, 1851) her.

Aus 100 Theilen frischen Gehirnes hat er 0.027 Gr. Asche erhalten.

Diese bestand, procentisch gerechnet,

aus freier Phosphorsäure — 9,15

phosphorsaurem Kali — 55,24

„ Natron — 22,93

| | | |
|--------------------------|---|-------|
| phosphorsaurem Eisenoxyd | — | 1,23 |
| „ Kalk | — | 1,62 |
| „ Magnesia | — | 3,40 |
| Chlornatrium | — | 4,74 |
| Schwefelsaurem Kali | — | 1,64 |
| Kieselsäure(?) | — | 0,42. |

Hier bemerkt man sogleich die grosse Rolle, die die Phosphorsäure spielt: über 9% der ganzen Asche besteht aus freier Phosphorsäure, und von den übrigen 90% sind 85% phosphorsaure Salze. Im Uebrigen sind seine absoluten Werthe ganz auffallend klein. Wie er aber seine Resultate bekommen hat, wissen wir nicht, da er über seine analytische Methode gar nichts angibt.

Lassaigue (Journal de chim. med. 1850, pag. 646) giebt an, die Asche der grauen Substanz sei stets stark alkalisch, die der weissen stark sauer.

v. Bibra (Vergleichende Untersuchungen über das Gehirn. Mannheim, 1854) hat von entfetteten Gehirnen verschiedene Aschenanalysen gemacht. (auf seine Untersuchungen von Gehirnen Geisteskranker brauche ich hier nicht weiter einzugehen) und auf 75 Theile löslicher 25 Theile unlöslicher Salze, auf 52,2 Theile Kali 47,8 Theile Natron gefunden. Eine Asche enthielt ausser einer Spur Chlor nur phosphorsaure Salze, andere dagegen ganz ansehnliche Mengen Chlor (bis 12% NaCl) ein Hundsgehirn 16,89% Chlornatrium.

Petrowsky (Pflüger's Archiv S. 368) verglich die weissen und grauen Substanzen, und fand auch für die Salze wesentliche Unterschiede zwischen beiden. In ersterer fand er 0,5719 Gr., in letzterer 1,4552 Gr. Gesamtasche. Letztere Zahl stimmt mit der Angabe Lassaigue's gut überein.

Gscheidlen (Pflüger's Archiv Bd. VIII, S. 171) prüfte die Reaction des Gehirns auf den mit Lakmus getränkten Liebreich'schen Thon und Gypsplatten, und kam — im Gegensatz zu Lassaigue — zu dem Resultat, dass die graue Substanz stark sauer, die weisse schwach alkalisch oder neutral reagirt. Gscheidlen stellte aus elf Hundgehirnen 0,423 Gr., aus einem Pferdegehirn 0,219 milchsauren Kalk dar, und bezieht desshalb die saure Reaction auf milchsauren Kalk.

Forster (Zeitschrift für Biologie, Bd. IX, S. 363 f.) hat im Laufe einer Untersuchung für andere Zwecke drei fragmentarische Analysen des Gehirns gemacht; in der ersten fand er auf 100 Gramm frische Substanz 1,69 Gramm, in der zweiten auf 100 Gramm frische Substanz 1,58 Gramm, in der dritten auf 100 Gramm trockene Substanz 6,35 Gr. Gesamtasche. Von den Aschenbestandtheilen scheint er nur die Phosphorsäure und Eisen speciell bestimmt zu haben, und fand für die erstere Werthe von über 50%.

Zülzer (Centralblatt f. d. med. Wissensch. Nr. 42 u. 43, 1877) stützt sich auf «die Aschenanalysen von Breed, auf die Analysen von Bibra, Lassaigne und Forster bezogen» und nimmt danach 0,575 Gr. K und 0,170 Na in 100 Gr. frischen Gehirns an. Wie er aber diese Mengen aus der Analyse von Breed, der selbst nur 0,027 Asche angiebt, wovon die Alkalien noch nicht 40% betragen, bekommen hat, ist schwer verständlich. Später gibt er an, er habe die Werthe für Kali zu hoch gegriffen, und dies stimmt mit meinen Analysen überein, nach welchen seine Werthe um das Vierfache zu hoch sind.

Befunde, wie die von Borsarelli (Giornale della Società di farmacia di Torino, Bd. X, S. 97), der eine Zunahme des Phosphorgehaltes mit dem Alter, und von Horsford (Annalen Chemie, Bd. 149, S. 202) der Fluor gefunden haben will, glaube ich übergehen zu dürfen.

Auf Vorschlag des Herrn Prof. Hoppe-Seyler habe ich, mit Hilfe einer Methode, welche das Lecithin unzersetzt das Nuclein aber berechnen lässt, die Lücken, welche die bisherigen Untersuchungen gelassen haben, nach Möglichkeit auszufüllen gesucht.

Meine analytische Methode war folgende:

Von einem Gehirn wurde gleich nach der Section die Pia Mater möglichst vollständig abgezogen. Zur ersten, hier nicht weiter mitgetheilten Analyse habe ich ein ganzes Gehirn genommen; es stellte sich jedoch heraus, dass die Masse zu gross war, deshalb wurde in der Folge das zur Analyse verwandte Gehirn in zwei gleiche Hälften der Länge nach getheilt, und von jeder eine Analyse gemacht, die frische

Substanz gewogen, in einem Mörser zu einem gleichmässigen Brei zerrieben, und dann in 80procentigen Alkohol gebracht. Nach 48 Stunden wurde der Alkohol abfiltrirt, und durch eine frische Portion ersetzt und dies Verfahren vier oder fünf Mal wiederholt. Das gesammte, so erhaltene Extract wurde dann bei mässiger Wärme auf dem Wasserbad fast zur Trockne verdampft und nachher mit Aether behandelt, bis der abgossene Aether keinen Rückstand mehr gab. Nachdem die Gehirns substanz vollständig mit kaltem Alkohol ausgezogen war, wurde der ungelöste Rückstand in Aether gebracht, und derselbe erneuert, so lange er noch etwas aufnahm. Nach dem Behandeln mit Aether wurde die Substanz weiter mit mehreren Portionen 90procentigem Alkohol, bei einer Temperatur von 75°, auf dem Wasserbade digerirt und zwar mit jeder Portion ungefähr zwei Stunden und die Flüssigkeit jedesmal heiss abfiltrirt. Hiernach wurde mit destillirtem Wasser extrahirt, in der Regel mit drei Portionen, das Wasserextract gesammelt, eingedampft, und zu dem mit Aether behandelten Alkoholextracte hinzugefügt. Das Gehirn wurde dann weiter mit dreiprocentiger Salzsäure behandelt. Dies letzte Verfahren wurde nur bei der ersten (nicht mitgetheilten) Analyse angewandt: es war hauptsächlich auf die Bestimmung der freien, an Nuclein nicht gebundenen Phosphorsäure gerichtet, die sich aber in diesem Extracte nicht vorfand. Endlich wurde die jetzt übrigbleibende Substanz mit ungefähr 20 Gr. ganz reinem kohlen saurem Baryt innig gemischt und in einem Platintiegel verbrannt.

In dem kalten Alkohol lösten sich fast alle die in der Folge zu beschreibenden Salze, das Wasserextract dagegen enthielt nur sehr geringe Mengen davon. Durch Aether wurde Lecithin und Cholesterin fast gänzlich entfernt. Das heisse Extrahiren mit Alkohol hatte hauptsächlich den Zweck, mir zu einer anderen Untersuchung eine Quantität Cerebrin zu verschaffen, trug aber dazu bei, dass es die letzten dem Cerebrin anhaftenden Spuren Lecithin mit entfernte. Beim Verbrennen wurde dann die Phosphorsäure, die in dem vorhandenen Nuclein enthalten war, befreit und gleich an das

Baryum gebunden. Sonst waren in der Asche nur Calcium, Magnesium und phosphorsaures Eisen vorhanden. Jetzt wurde das gesammte Wasser- und Alkoholextract in einer Platinschale bei nicht zu starker Hitze verascht und die Asche mit Wasser ausgezogen, etwaige ungelöst bleibende Substanzen wurden dem Theile der letzten Asche, der keine Phosphorsäure enthielt, zugefügt. Die Lösung der Asche des Alkohol- und Wasserextractes reagirte stark alkalisch und enthielt gebundene Kohlensäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Chlor, Kalium und Natrium. Sie wurde auf 250 Cc. mit Wasser verdünnt und in zwei Portionen von 100 und 150 Cc. getheilt. Die erste Portion wurde zur Bestimmung von Chlor und Phosphorsäure angewendet und die zweite um die Kohlensäure, Schwefelsäure und Alkalien zu bestimmen. Die Gewichte von Chlor und Phosphorsäure wurden in der gewöhnlichen Weise durch salpetersaures Silber und Magnesiummischung ermittelt. Die Kohlensäure wurde nach der Methode von Hoppe-Seyler (Handbuch der phys. Chemie, IV. Auflage, S. 295–7) bestimmt. Schwefelsäure liess sich natürlich als schwefelsaurer Baryt ermitteln. Dann wurde die Flüssigkeit mit Baryt neutralisirt und nach der bekannten Methode mit kohlensaurem Ammoniak die Alkalien als Chlormetalle bestimmt, die Menge des Chlorkaliums durch Platinchlorid gefunden und das Natrium durch Abziehen dieses Gewichts von der Summe der Chloralkalimetalle ermittelt.

Die Phosphorsäure in der Asche von Gehirnsubstanz wird durch Schwefelsäure von Baryum losgetrennt und der Niederschlag vom schwefelsauren Baryum abfiltrirt. Das schwefelsäurehaltige Filtrat wird mit Ammoniak neutralisirt, und der entstehende Niederschlag, der Calcium, Magnesium und phosphorsaures Eisen enthält, zu dem auch die unlöslichen Theile der Asche des Alkohol- und Wasserextractes gehören, abfiltrirt. Das Filtrat enthält nur Phosphorsäure, die durch Magnesia-Mischung ausgefällt wird, und aus dem Gewicht dieser ergibt sich das Nuclein, das nach der von Miescher (Verhandl. d. naturforsch. Ges. Basel VI, 1. Heft S. 138) aufgestellten Formel berechnet ist. Der mit dem Neutralisiren ent-

stehende Niederschlag, zu dem auch die unlöslichen Theile der Asche des Wasser- und Alkoholextractes gehören, wurde in Salzsäure aufgelöst, die Lösung neutralisirt und dann mit Essigsäure behandelt. In der Essigsäure bleibt nur phosphorsaures Eisen ungelöst und dieses wurde dann abfiltrirt und gewogen. Im Filtrat wurden Kalk und Magnesia bestimmt.

Nach dieser Methode habe ich neben mehrern verfehlten, folgende vier vollständige Analysen ausgeführt:

| | I | II | III | IV |
|------------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| Substanz | 600 Gr. | 500 Gr. | 500 Gr. | 500 Gr. |
| Cl | 0,720 | 0,215 | 0,660 | 0,532 |
| PO ₄ | 0,843 | 0,478 | 1,008 | 0,696 |
| CO ₃ | 0,478 | 0,122 | 0,274 | 0,165 |
| SO ₄ | 0,136 | 0,051 | 0,068 | 0,066 |
| Fe (PO ₄) ₂ | 0,006 | 0,048 | 0,049 | 0,016 |
| Ca | 0,003 | 0,010 | 0,007 | 0,011 |
| Mg | 0,010 | 0,034 | 0,030 | 0,036 |
| K | 0,978 | 0,290 | 0,889 | 0,760 |
| Na | 0,601 | 0,225 | 0,557 | 0,390 |
| Summa | 3,775. | 1,473. | 3,542. | 2,672. |

Diese Werthe habe ich dann auf 1000 Gr. Gehirns-Substanz bezogen. Das erhaltene Gewicht der Schwefelsäure ist als Kaliumsulfat, das Chlor als Chlorkalium berechnet; was noch vom Kalium übrig bleibt, wird als an Phosphorsäure — als $K_2 HPO_4$ — gebunden betrachtet. Die Phosphorsäure wird hierdurch nicht gesättigt, sondern ein Theil derselben bleibt als $Ca_3 (PO_4)_2$, ein anderer Theil als $MgHPO_4$ übrig, und der grosse Rest wird an Natrium gebunden ($Na_2 HPO_4$). Das übrige Natrium ist als kohlensaures Salz in Rechnung gezogen. In dieser Weise berechnet, stellen sich meine Resultate folgendermassen dar:

| | I. | II. | III. | IV. |
|---|-------|-------|-------|-------|
| SO ₄ K ₂ | 0,411 | 0,184 | 0,246 | 0,218 |
| K Cl | 2,524 | 0,904 | 2,776 | 2,038 |
| H K ₂ PO ₄ | 0,266 | 0,052 | 0,472 | 0,534 |
| Ca ₃ (PO ₄) ₂ | 0,013 | 0,052 | 0,036 | 0,056 |
| Mg H PO ₄ | 0,084 | 0,340 | 0,300 | 0,360 |

| | | | | |
|------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| $\text{H Na}_2 \text{ PO}_4$ | 1,752 | 0,824 | 2,212 | 1,118 |
| $\text{Na}_2 \text{ CO}_3$ | 1,148 | 0,392 | 0,440 | 0,748 |
| übrige CO_3 | 0,082 | — | — | 0,004 |
| übriges Na | | 0,034 | 0,064 | — |
| $\text{Fe (PO}_4)_2$ | 0,010 | 0,096 | 0,048 | 0,016 |

Das wesentlich Neue, das aus meinen Untersuchungen hervorgeht, ist die Anwesenheit von Kohlensäure, die in allen vier mitgetheilten Analysen, und auch in anderen unvollständigen, in mehr oder weniger grösser Menge vorkommt. Die Kohlensäure ist wohl in den früheren Analysen, wie schon hervorgehoben, durch die Phosphorsäure des Lecithins aus ihren Verbindungen vertrieben, ebenso die grösste Menge des Chlors und ein Theil der Schwefelsäure. Nach der oben-erwähnten Berechnung wird sie regelmässig an Natron gebunden, und es ist als wahrscheinlich, wenn auch nicht als sicher erwiesen zu betrachten, dass sie in der That in dieser Form vorhanden ist. Wahrscheinlicher ist es, weil wir das Salz bestimmt als präformirt im Blute nachweisen können, doch muss man immerhin zugeben, dass ein Theil des Natrons auch an organische Säuren gebunden sein kann, vielleicht an die von Gscheidlen gefundene Milchsäure.

Im Allgemeinen wissen wir jetzt so gut wie gar nichts über die Art der Verbindung dieser anorganischen Salze mit Bestimmtheit auszusagen — man darf natürlich von dem Aschenbefunde nicht behaupten, dass die sämtlichen Salze als solche in der frischen Substanz präformirt waren; die Asche zeigt nur die Anwesenheit der Elemente, nicht die Art ihrer ursprünglichen Verbindungen.

Weiter möchte ich noch besonders hervorheben, dass die Phosphorsäure, wenn man die Menge, die von Lecithin herrührt, ausschliesst, keinen so grossen Theil der Asche bildet, wie immer noch von mehreren Seiten angenommen wird. Wenn wir den Durchschnitt der vier Analysen nehmen, so bekommen wir für Phosphorsäure noch nicht 23%, eine Zahl, die fast dreimal kleiner ist, wie jene, die man bekommt, so lange die Phosphorsäure des Lecithins in der Asche einbegriffen ist.

Die Unterschiede in den erhaltenen Werthen lassen sich durch eine unvollkommene Extraction nicht erklären, wie aus Analysen III und IV herhorgeht. Die Summe der Salze von III = 3,542 Gr. — übertrifft um fast die Hälfte die von IV = 2,672 Gr., — obgleich die erstere grössere Menge ganz in der gewöhnlichen, oben angegebenen Weise erhalten wurde, während die andere, dem Gewicht nach gleiche Hälfte des Gehirns, welche die kleinere Menge lieferte, nach viermaliger Behandlung mit Alkohol, die ganzen Herbstferien unter Alkohol blieb und nachher noch mit einer sechsten Portion behandelt wurde.

In Bezug auf Kohlensäure könnte man meinen, dass es sich hier nur um aus der Luft absorbirte Mengen handelt, dieser Fehler wurde aber durch vorheriges Auskochen vermieden.

Die Albuminstoffe kann man für die Variationen der Schwefelsäure kaum in Betracht bringen, weil diese Stoffe erstens nur in äusserst geringer Menge gelöst wurden und zweitens ihr Schwefelgehalt ein ganz kleiner ist.

Die Unterschiede in den Mengen der Phosphorsäure sind wahrscheinlich auf die Phosphorsäure des Lecithins zu beziehen. Die Zersetzlichkeit dieses Körpers wird auch durch die von mir angewendete Methode nicht ganz überwunden. Lecithin fängt an sich zu zersetzen, wenn nicht schon mit dem Aufhören der Circulation, doch jedenfalls wenige Stunden nachher, und die Section darf nicht gleich nach dem Tode vorgenommen werden. Ich glaube daher mit Recht annehmen zu dürfen, dass die kleineren gefundenen Werthe mehr der wirklichen Menge der als Salz vorhandenen Phosphorsäure entsprechen. Dass meine Vorgänger so grosse Mengen phosphorsaure Alkalien gefunden haben, ist wieder auf denselben Fehler zurückzuführen, nämlich auf die durch Verbrennung bedingte Zersetzung des Lecithins und auf die Vertreibung von Chlor.

Am constantesten sind die Werthe für Chlorkalium, die in drei Analysen als 40,12, 42,09 und 39,85 procentisch gerechnet erschienen. Nach dieser Substanz kommen in der Reihe Natriumphosphat und Natriumcarbonat. Die Werthe

für Calcium und Magnesium, die überhaupt nur in sehr kleinen Mengen vorkommen, stimmten nur in diesen niedrigen Werthe überein.

Doch wenn man die erhaltenen Elemente als Salze berechnet, ist das Uebrigbleibende äusserst minimal, in einem Falle 0,082 CO_2 , in zwei 0,033 und 0,064 Na und in der vierten Analyse ein Fehler von 4 Milligramm Kohlensäure.

Vier Analysen geben natürlich, wo es auf so viele Substanzen ankommt, kein entscheidendes Resultat und es werden sich wahrscheinlich mit den Fortschritten unserer Kenntnisse über die organischen Bestandtheile des Gehirns, besonders über die Zusammensetzung und Zersetzungsweise der Eiweisskörper weitere Fehlerquellen herausstellen, durch deren Beseitigung wir die anorganischen Bestandtheile genauer werden bestimmen können.

2. Nuclein.

Auf Nuclein im Gehirne wurde zum ersten Male von Jaksch (Pflüger's Archiv., Bd. 13, S. 469) untersucht. In einem sehr sorgfältig ausgeführten Versuche hat er 3 Gramm der Substanz gefunden.

In vier Analysen (auf 1000 Gramm Gehirnssubstanz bezogen) habe ich

- | | |
|----|-------|
| 1) | 1,390 |
| 2) | 1,624 |
| 3) | 1,340 |
| 4) | 1,368 |

bekommen, also im Mittel etwas über 1,4 pro 1000 Gr. Substanz.

Die Differenzen zwischen dem Werthe von Jaksch und den meinigen versuche ich nicht zu erklären, besonders weil Jaksch nur eine Bestimmung und auf anderem Wege gemacht hat, und diese hauptsächlich, um die Anwesenheit des Körpers im Gehirne zu beweisen.

Meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. Hoppe-Seyler, der mich zu dieser Untersuchung angeregt und ihre Ausführung geleitet hat, sowie Herrn Prof. Dr. von Recklinghausen, der mir Material in liberalster Weise zur Disposition gestellt hat, sage ich meinen herzlichsten Dank.

Strassburg i. E., im November 1877.