

(Aus dem Physiologischen und dem Pathologischen Institut der Universität Lund,
Schweden [Chef: Prof. G. Kahlson und Prof. E. Sjövall].)

Gibt es eine Blut-Hirnschranke?

Von
Tore Broman.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. August 1940.)

Die Theorie einer Blut-Hirnschranke (BHS), die selektiv die Stoffpassage vom Blut zum zentralen Nervensystem (ZNS) regeln soll, wurde vor bald 30 Jahren aufgestellt, ist aber bemerkenswerterweise verhältnismäßig unbekannt geblieben. Vielerorts begegnete man dieser Theorie mit berechtigtem Mißtrauen, zumal die Forschung auf diesem Gebiet oft unkritisch betrieben worden war, mit unvollständigen Versuchsbedingungen und unklaren oder direkt falschen theoretischen Überlegungen.

So hat man die Ausdrücke „Permeabilität“ und „Schranke“ oft ohne Rücksicht auf ihre physikalisch-chemische Bedeutung angewendet. Mit „Permeabilität“ einer Membran für einen bestimmten Stoff meint man das Durchlässigkeitvermögen dieser Membran für diesen Stoff. Diese Durchlässigkeit kann unter physikalisch definierten Verhältnissen gemessen werden (bestimmter Konzentrationsabfall, bestimmte Membrangröße, bestimmte Temperatur usw.). Also nur unter der Voraussetzung, daß diese Faktoren bekannt und konstant sind, kann man durch Untersuchung der Durchtrittsverhältnisse eines Stoffes durch eine Membran die Permeabilität dieser Membran berechnen oder auf Veränderungen in der Membranpermeabilität für das bestimmte Mittel schließen.

Der Begriff „Schranke“ dürfte eigentlich nur angewendet werden, wenn man klar bewiesen hat, daß erstens für die Passage ein bestimmtes Hindernis für einen oder mehrere Stoffe von der einen Seite der Membran auf die andere vorliegt, und daß dieses Hindernis zweitens auf den Durchlässigkeitseigenschaften der Membran beruht.

Der „Schrankeneffekt“ einer Membran und ihre Permeabilität sind also zusammengehörende Begriffe¹.

In einem physikalisch wohldefinierten System kann man das verhältnismäßig leicht feststellen. Ganz anders verhält es sich im lebenden Organismus. Wenn man hier einen Stoff auf der einen Seite der Membran zuführt und ihn gar nicht oder in nur sehr geringer Konzentration auf

¹ Genau genommen ist jede Membran irgendwie eine Schranke. So bildet z. B. eine kolloidundurchlässige Membran eine Schranke für Teilchen kolloidalen Dispersitätsgrades. Eine selektiv ionendurchlässige Membran ist eine Schranke für eine gewisse Sorte Ionen (positive oder negative) usw.

der anderen Seite der Membran wiederfindet, kann das auf vielen anderen Ursachen als gerade auf einem Permeabilitätshindernis beruhen. Man könnte sich z. B. vorstellen, daß verschieden starke „Affinitäten“ (chemische oder adsorptive) für den betreffenden Stoff in den Geweben (oder Flüssigkeiten) auf den beiden Seiten der Membran vorliegen, oder daß ein Unterschied im Stoffwechsel während oder unmittelbar nach der Passage in das neue Milieu zu einem Abbau des Stoffes führt.

Es ist also unkritisch, wenn man einer Membran für einen Stoff eine Schrankenfunktion zuschreibt, bloß weil man auf beiden Seiten der Membran verschiedene Konzentrationen des betreffenden Stoffes gefunden hat; noch unkritischer ist es, wenn man infolge von Konzentrationsveränderungen glaubt, eine veränderte Permeabilität in der so postulierten Schrankenmembran bewiesen zu haben. Wenn man z. B. auf Grund sog. „Liquorpermeabilitätsproben“ glaubt, Anhaltspunkte dafür gefunden zu haben, daß Änderungen in der BHS oder der Blut-Liquorschranke (BLS) dem Entstehen einer Reihe verschiedener Krankheiten des ZNS zugrunde liegen und ferner, daß bestimmte therapeutische Maßnahmen bei Erkrankungen im ZNS durch Veränderungen in oder an dieser Schranke wirken, so stehen diese Behauptungen aus verschiedenen Gründen nicht auf wissenschaftlich gesichertem Boden.

Die Kritik gegen die Lehre von der BHS ist in den letzten Jahren immer mehr gewachsen, und man hat mehrere Versuche gemacht, dem empirisch festgestellten Unterschied in der Stoffpassage vom Blut zum ZNS auf der einen Seite und zu den übrigen Organen auf der anderen Seite durch andere Hypothesen zu erklären. Im Folgenden versuche ich einen Überblick zu geben über die verschiedenen Erklärungsversuche, die vorgebracht worden sind, und ihre experimentellen Unterlagen für oder gegen die Theorie einer BHS. Auch eigene Versuche, die geeignet sind, diese Frage zu beleuchten, werden vorgelegt. Ich habe indessen nicht die Absicht, hier näher auf die Geschichte der BHS-Forschung einzugehen, sondern verweise auf die ausgezeichneten Übersichtsartikel von *H. Spatz* und *Lester S. King*.

Die Grundlagen für die Theorie einer Blut-Hirnschranke.

Vor mehr als 50 Jahren fand *Ehrlich* (1887), daß das ZNS mit einer Anzahl verschiedener Farbstoffe vital gefärbt werden kann; unter anderem machte er eine Reihe Untersuchungen mit Methylenblau. Er stellte auch fest, daß einige andere Farbstoffe nicht ins ZNS eindringen. Vor allem haben aber *Goldmanns* klassische Arbeiten (1913) grundlegende Bedeutung für die Forschung auf diesem Gebiete gewonnen. Er untersuchte die Passage des sauren, semikolloidalen Farbstoffes Trypanblau in den beiden folgenden Versuchen (die Ergebnisse sind durch spätere Kontrolluntersuchungen verschiedener Forscher ergänzt):

Goldmanns erster Versuch.

Einem Kaninchen wird „paraneural“, am geeigneten intravenös, Trypanblau injiziert. Auch wenn man relativ große Dosen spritzt, zeigt das Tier keine Anzeichen einer Intoxikation des ZNS, und wenn

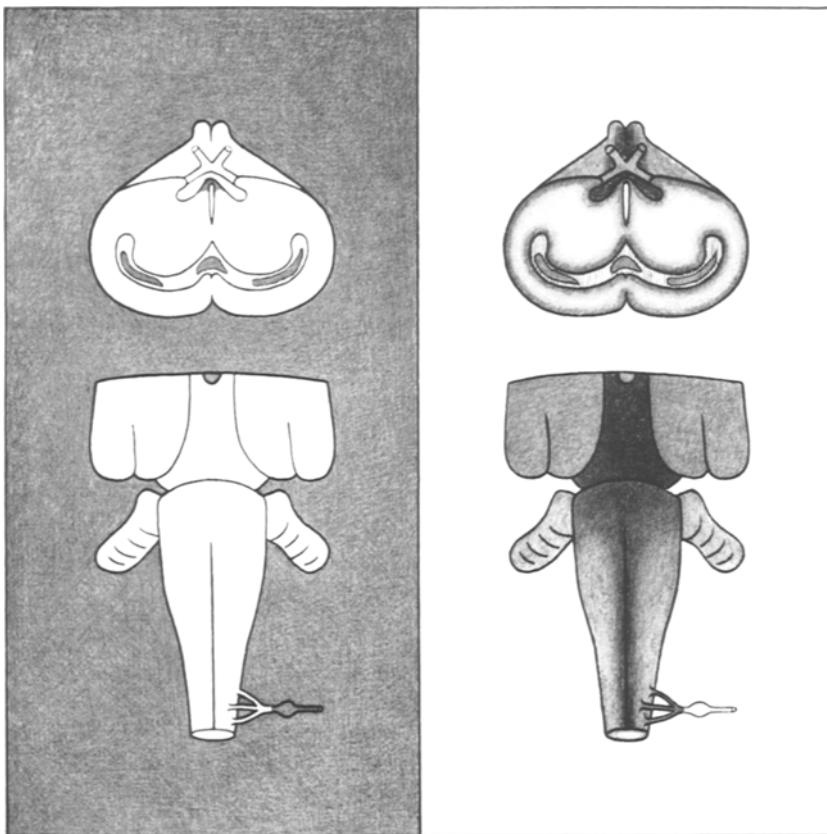


Abb. 1. *Goldmanns Versuche.* Nr. 1. Paraneurale Injektion von Trypanblau. Alle Organe des Körpers sind gefärbt mit Ausnahme des ZNS. Nr. 2. Endoneurale (subarachnoidale) Injektion von Trypanblau. Färbung der Oberflächenschicht des ZNS, hauptsächlich in den Gebieten der Zisternen. Die übrigen Organe des Körpers sind ungefärbt.

man es tötet und untersucht, findet man, daß alle Organe außer dem ZNS blaugefärbt sind. Gewöhnliche periphere Nerven und Ganglien sind stets gefärbt, während der N. opticus und die Papilla n. optici ungefärbt bleiben, was mit der Entwicklung dieser Organe aus dem ZNS übereinstimmt. Die Dura und der Plexus choriodei sind stark gefärbt, ebenso findet man eine deutliche Färbung der Hypophyse einschließlich ihres Hinterlappens und des Tuber cinereum und der Area postrema. Auch die Epiphyse ist schwach gefärbt. Injiziert man sehr große

Dosen, zeigen sich toxische Einwirkungen am Versuchstier, und man kann dann auch eine schwache Färbung der Meningen und des Liquors sehen. Aber unter allen Umständen bleibt das ZNS selbst ungefärbt.

Dieser Versuch ist an einer großen Anzahl Wirbeltierarten ausgeführt worden, die sich alle auf dieselbe Art zu verhalten scheinen. Auch am Menschen hat man Untersuchungen anstellen können, in den Fällen nämlich, wo Trypanblau oder ähnliche Farbstoffe aus therapeutischen Gründen gespritzt worden waren und die Patienten gerade kurz danach gestorben sind (vgl. auch die Verhältnisse beim Ikterus).

Eine Anzahl verschiedener saurer (oder negativ geladener) Farbstoffe sind mit demselben Ergebnis geprüft worden, jedoch mit der Ausnahme, daß Injektion von außergewöhnlich großen Dosen gewisser Farbstoffe, besonders von leicht diffusiblen, zu schwachem Farbstoffdurchtritt, nicht nur in den Liquor, sondern auch direkt ins ZNS führen.

Goldmanns zweiter Versuch.

Wenn der Farbstoff statt dessen in den Liquor — sog. „endoneurale“ Injektion — injiziert wird, bekommt das Versuchstier Anzeichen von akuter Intoxikation des ZNS in Form von Reizungs- oder Ausfallsymptomen, auch wenn verhältnismäßig kleine Farbstoffmengen gespritzt werden. Bei der Sektion sieht man, daß der Farbstoff ins ZNS eingedrungen ist, besonders in die Umgebung der subarachnoidalen Zisternen. Die Tiefe der gefärbten „Zonen“ hängt von der Dispersität des Farbstoffes und davon ab, wie lange er einwirken konnte. Die Diffusion ins ZNS geht in „breiter Front“ vor sich und folgt nicht irgendwelchen speziellen „Transportwegen“ etwa in der Art der Adventitialräume der Gefäße (*Spatz*)¹.

Schlüssefolgerungen (von Goldmann und späteren Forschern).

Trypanblau² kann ins ZNS eindringen, wo es wie ein Gift wirkt (2. Versuch). Vom Blut aus aber kann es nicht zum ZNS vordringen,

¹ Die Art und Weise des Eindringens des Farbstoffes in die Hirnsubstanz beim 2. Goldmannschen Versuch wurde erst von Spatz näher untersucht (1924 und 1933). Er fand, daß die Farbstoffe unabhängig von irgendwelchen Gewebsstrukturen in breiter Front eindringen und daß sich die semikolloidalen Farbstoffe auch im chronischen Versuch auf bestimmte „Randzonen“ beschränken. Das Trypanblau dringt zunächst nur 1 mm weit ein, bei längerer Dauer des Versuches nur wenig tiefer. Nach Spatz liegt ein Diffusionsvorgang vor; die Tiefe der Zonen wird, ähnlich wie bei Modellversuchen mit Gelatine, in erster Linie durch die Dispersität des Farbstoffes bestimmt. Bei gleichzeitiger Diffusion von Farbstoffen verschiedener Dispersität entstehen Farbzonen von verschiedener Tiefe.

² Man muß hier anführen, daß — wenn auch die beiden Farbenversuche (dank der leicht beobachtbaren Durchtrittseigenschaften der Farbstoffe) die eigentliche Grundlage für die Theorie einer BHS bilden, so gibt es doch noch andere Beobachtungen, die in gleicher Richtung weisen. Eine Anzahl farbloser Stoffe, darunter mehrere Toxine, verhalten sich genau so wie die Farbstoffe. Ich werde auf diese Verhältnisse in einem späteren Artikel näher eingehen, worin verschiedene Probleme der Stoffpassage ins ZNS behandelt werden sollen.

obwohl es in alle anderen Organe des Körpers eindringen kann (1. Versuch). *Also muß es ein Hindernis für die Passage des Stoffes geben.*

Goldmann kam nun merkwürdigerweise auf Grund seines 2. Versuches zu der Hypothese, daß der Übertritt des Trypanblaus durch eine „spezifische Funktion des Plexusepithels hintangehalten werde“; der Plexus sei ein „wichtiger Schutz- und Regulationsmechanismus für das ZNS“ und nur, wenn „diese physiologische Eintrittspforte“ umgangen wird (wie bei seinem 2. Versuch), sei dem Trypanblau und anderen differenten Stoffen „Tür und Tor für den Eintritt in das ZNS geöffnet“. *Goldmann*, wie später *Lina Stern* (1921) und *Monakow* (1921), wurden von der falschen Auffassung beherrscht, daß die Stoffpassage ins ZNS auf dem Wege des Liquors stattfinde, von dem man annahm, daß er als Nährlösung für das ZNS diene. Die „barrière hématoencéphalique“ von *L. Stern* bezeichnet also eine am Plexus chorioideus bzw. an den Meningen („Permeabilität der Meningen“) lokalisierte Schranke, welche die Passage gewisser Substanzen vom Blut zum Liquor (und dadurch mittelbar zum ZNS) verhindern soll. Diese Schranke wird heutzutage mit *Walter* „BLS“¹ genannt. *Walter* stellt dieser bewußt die „Blut-Gehirnschranke“ (BGS) als unmittelbare Eintrittspforte beim Übertritt von Stoffen vom Blut zum ZNS gegenüber und *Spatz* (1924 und 1933) sieht, wie nach ihm auch andere, die wichtigste Schranke in der Intima der Blutgefäße des Gehirns (statt des Plexus und der Meningen). Die Lehre vom „Weg über den Liquor“, wie sie besonders auch von *A. Hauptmann* vertreten wurde, wird von *Walter* und *Spatz* abgelehnt.

Es hat also große Unklarheiten auf diesem Gebiete gegeben, was Definitionen und Theorien betrifft. Die obengenannte falsche Hypothese bezüglich des Weges der Stoffpassage über den Liquor brachte es mit sich, daß die Untersuchungen lange Zeit hauptsächlich auf die Passage vom Blut in den Liquor gerichtet waren². Verschiedene Arten sog. „Permeabilitätsproben“ wurden sowohl im Tierexperiment wie auch klinisch ausgeführt. Zum größten Teil haben diese jedoch unklare und für die Erforschung der BHS wenig fruchtbare Ergebnisse gebracht.

Einige kritische Bemerkungen über die „Permeabilitätsprobe“ an der BHS.

Die Art der Zuführung des Farbstoffes und die Art, wie man die Proben entnimmt, spielen eine beträchtliche Rolle für das Ergebnis. Die Untersuchungen, in denen ein Stoff intravenös als einmalige Dosis zugeführt und seine Konzentration im Liquor nach einem bestimmten Zeitintervall mit einer einzigen Bestimmung festgestellt wurde, haben nur geringen Wert, wie schon *Walter* (1933) und *Kafka* (1933) hervorgehoben haben. Die Stoffpassage hängt u. a. von der Blutkonzen-

¹ In einem späteren Aufsatz werde ich zeigen, daß es fraglich ist, ob es eine Plexusschranke gibt. — ² Vermutlich auch eine Folge der Leichtigkeit, mit der man Liquoranalysen an Patienten ausführen kann.

tration ab, und diese wiederum kann in den verschiedenen Fällen variieren, auch wenn man jedesmal dieselbe Menge zuführt. Auch wenn man gleichzeitig Proben von Blut und Liquor entnimmt, bleibt das Experiment doch unvollständig, da die Blut- und Liquorkonzentrationen mehr oder weniger unabhängig voneinander variieren. So beginnt die Blutkonzentration unmittelbar nach der intravenösen Injektion zu fallen, während die Liquorkonzentration erst von Null bis zu einem Maximum steigt, bevor sie wieder langsam fällt. Will man den Durchtritt einer Substanz beurteilen können, so muß man daher diese beiden Konzentrationskurven in ihrer Beziehung zueinander verfolgen, was also Serienproben sowohl vom Blut wie vom Liquor notwendig macht. Auf Grund der relativ langsamen Bildung und Zirkulation des Liquors muß man auch mit Differenzen zwischen Proben rechnen, die aus den Ventrikeln, denen aus den subarachnoidalen Zisternen, und denen, die aus dem Wirbelsäulenkanal entnommen sind. Eine sicherere Auffassung von den Bedingungen des Durchtrittes bekommt man in Fällen, wo die Blutkonzentration durch fortlaufende Zufuhr in der eigentlichen Versuchsdauer konstant gehalten wird (vgl. *Walters* Bromprobe).

Auch wenn man obige Verhältnisse beachtet, kann man immer noch Einwendungen gegen diese „Permeabilitätsprobe“ machen. Es gibt nämlich *eine Reihe anderer Faktoren außer der Permeabilität der Zellmembranen, von denen man sich theoretisch vorstellen könnte, daß sie auf die Stoffverteilung im Organismus einwirken, wie auch einzelne Experimente bewiesen haben.* Am bedeutungsvollsten dürften die *Absorptionskräfte* sein, die in großem Umfang in den verschiedenen Geweben und Körperflüssigkeiten variieren. Wir wissen, daß sowohl basische wie saure Farbstoffe in großem Ausmaß an Eiweißkörper im Körper adsorbiert werden (*Bennhold* 1932). Eine Änderung im Adsorptionsvermögen der Serum eiweiße oder eine krankhafte Eiweiß erhöhung im Liquor müssen daher den Übergang dieser Farbstoffe in den Liquor beeinflussen. Auch der *Donnan-Effekt* und die *Löslichkeitsverhältnisse* müssen für die Passage von Bedeutung sein. — Hierzu kommt ein vierter, weniger leicht kontrollierbarer Faktor: die Möglichkeit einer Elimination des Farbstoffes aus dem Liquorraum durch *Abbau* in den umgebenden Geweben oder möglicherweise durch *selektive Rückresorption* — eventuell via ZNS — ins Blut. Auf jeden Fall ist es aus mehreren Gründen wahrscheinlich, daß ein Stoffaustausch vorkommt zwischen ZNS und Liquor; so glaubt man z. B., daß der niedrige und in caudaler Richtung abnehmende Glucosegehalt im Liquor darauf beruht, daß das ZNS diesen Stoff verbraucht (*Kafka* 1930)¹. Die Geschwindigkeit, mit der der

¹ Andererseits sieht es so aus, als ob gewisse Substanzen, wie z. B. Mg-Ionen (*Stary, Kral u. Winternitz* 1929) und möglicherweise auch SO₄-Ionen, teilweise aus dem ZNS herstammen. Besonders deutlich scheint dies für Eiweißstoffe zu gelten, die eine in caudaler Richtung zunehmende Konzentration aufweisen (*Kafka* 1930). Daß ein Übertritt von nicht körpereigenen Stoffen vom Liquor ins ZNS stattfinden kann, zeigt sich u. a. an den *Spinalanaesthetica* und Farbstoffen.

Liquor produziert wird und zirkuliert, dürfte also auch hierdurch auf die Konzentration einiger Stoffe in den verschiedenen Teilen des Liquorraumes einwirken.

Aus dem oben Gesagten geht hervor, daß eine „Permeabilitätsprobe“, die ein vom normalen Mittelwert abweichendes Ergebnis zeigt, nicht ohne weiteres als Beweis für pathologisch veränderte Permeabilitätsverhältnisse zwischen Blut und Liquor angeführt werden darf. Das Ergebnis kann genau so gut von den anderen obengenannten Faktoren abhängen, die die Passagemöglichkeiten und das Diffusionsgleichgewicht der Stoffe beeinflussen. *Die Ausdrücke „Permeabilitätsprobe“ und Probe an der BLS sollten deshalb vorläufig nicht für diese Form von Untersuchungen angewendet werden, da es unklar ist, inwieweit die Permeabilitätsverhältnisse von ausschlaggebender Bedeutung für das erhaltene Resultat sind.* Damit soll nicht gesagt sein, daß solche Untersuchungen von anderen Gesichtswinkeln aus jede praktische Bedeutung entbehren.

Schließlich muß man feststellen, daß *alle diese Liquoruntersuchungen nur äußerst begrenzten Wert als Indicator für die Stoffpassage zwischen Blut und ZNS haben, nachdem gezeigt worden ist, daß dieser Stoffaustausch in der Hauptsache direkt vom Blut aus stattfindet ohne Vermittlung des Liquors.* Das ist schon lange von Walter in einer kritischen Analyse der BHS- und der BLS-Fragen angeführt worden. Später haben Friedemann und Elkeles (1931, 1932) wie auch Schmid (1931) und Wesselkin (1930) im Tierversuch gezeigt, daß paraneurall eingespritzte basische Farbstoffe ins ZNS eindringen, ohne daß man eine Färbung des Liquors nachweisen kann, also ohne daß diese Farbstoffe erst „den Weg über den Liquor“ passieren müssen¹. Der direkte Weg ist ja auch um so natürlicher, als das Gehirn ein reichlich vascularisiertes Organ ist, das einen relativ hohen Stoffwechsel hat.

Diese Versuche hielt man auch für den ersten sicheren Beweis dafür, daß die zentralnervöse Schranke sich eigentlich aus 2 Schranken zusammensetzt: Der BHS und der BLS. Diese Auffassung teilen auch

¹ Die Theorie von dem „Weg über den Liquor“ ist später wieder in neuer Auflage erschienen (Hauptmann 1925, Stern 1934), wonach alle Hirngefäße von einer Liquorschicht zwischen Adventitia und Piagliamembran umgeben sein sollen. Ich werde hier nicht auf das Problem eingehen, inwieweit diese Räume (Virchow-Robins Räume) unter normalen Verhältnissen wirklich als flüssigkeitsführende Räume vorhanden sind, ebensowenig wie auf die Frage, inwieweit man annehmen kann, daß sie mit dem Liquorraum kommunizieren (vgl. Untersuchungen von Schaltenbrand u. Bailey 1928, Friedemann u. Elkeles 1932). Das einzige, was hier von Bedeutung ist, ist, daß auch, wenn solch ein flüssigkeitsführender Raum um alle Gefäße herum bestehen sollte, es dennoch keinen Grund gibt, weshalb diese Anordnung irgendeine spezielle Bedeutung für die Permeabilität von Blut zum ZNS haben sollte. Die Permeabilität für die hier in Frage kommenden Stoffe wird von den Membranen bestimmt, durch die sie passieren müssen und nicht von irgend-einer mikroskopischen Flüssigkeitsschicht zwischen diesen Membranen. Die Theorie vom „Weg über den Liquor“ kann deshalb unmöglich zu einer Gleichsetzung von BHS und BLS führen, weder anatomisch noch funktionell.

die meisten Forscher, *Walter* (1933, 1935), *Spatz* (1933), *Kafka* (1933) und in gewissem Grade auch *Stern* (1934). Hierbei stellt man sich im allgemeinen die BHS im Anschluß an die cerebralen Blutgefäße lokalisiert vor, während die BLS im Anschluß an die Blutgefäße in den Plexus chorioidei und den Meningen lokalisiert sein sollen.

Einwände gegen die Theorien von einer BHS. Andere Erklärungsversuche.

Mit Hinweis auf die große Bedeutung der Milieufaktoren für die Stoffpassage und -verteilung hat man vielerorts angefangen zu zweifeln, daß spezifische Permeabilitätsverhältnisse vorliegen, d. h. man stellt in Frage, ob es sich wirklich über die gewöhnlichen Permeabilitäts-eigenschaften der Gefäße hinaus um einen Schrankeneffekt handelt. Anderenorts hält man an dem Gedanken einer Schranke fest, meint aber, daß eine einheitliche, für das gesamte ZNS gemeinsame Schranke im Anschluß an die cerebralen Blutgefäße nicht vorhanden sein soll; statt dessen sollen die einzelnen Membranen der Nerven- und Gliazellen mit spezifischen Permeabilitätseigenschaften ausgerüstet sein. Diese verschiedenen Erklärungsversuche sollen hier der Reihe nach geprüft werden, wobei den in der Literatur vorgebrachten Gesichtspunkten eigene angefügt werden.

Die Theorie vom Mangel an Affinität.

Nach dieser Theorie soll die verschiedene „Affinität“ der Gewebe zu den geprüften Substanzen ausschlaggebend für ihre Verteilung sein (*Mendel* 1928). Verschiedenartige physikalische Kräfte erklären eine solche Affinität. So kann die *verschiedenartige Löslichkeit* eines Stoffes in verschiedenen Medien bestimmend für seine Verteilung zwischen diesen sein, wie es z. B. für die Verteilung von Alkohol zwischen Blut und Liquor wahrscheinlich gemacht worden ist (die größere Löslichkeit im Liquor setzt man in Zusammenhang mit dessen geringerem Eiweißgehalt. *Nicloux* 1934, *Goldberg* 1937). Auch der *Donnan-Effekt* dürfte für die Verteilung von Bedeutung sein, sobald das Kolloidmilieu auf beiden Seiten der Membran verschieden ist. Es ist z. B. wahrscheinlich, daß die Verteilung bestimmter Salzionen (wie Na und Cl) zwischen Blut und Liquor hauptsächlich vom *Donnan-Effekt* abhängt (*Stary*, *Kral* und *Winternitz* 1929). Ferner ist die *Adsorption* ein Faktor von sehr großer Bedeutung. Was unsere gewöhnlichen Farbstoffe betrifft, so wissen wir ja — wie schon erwähnt — daß sie in großem Ausmaß an die körpereigenen Eiweißkörper sowohl im Blut wie in den Geweben adsorbiert werden, und zwar ohne Rücksicht darauf, ob sie basischen oder sauren Charakter haben (*Bennhold* 1932).

Wenn ein saurer Farbstoff, wie z. B. Trypanblau, nicht zum ZNS vordringt und nur in geringem Grad zum Liquor, so soll das ganz ein-

fach auf einem Mangel an Adsorptionsvermögen des ZNS und des Liquors für den bestimmten Stoff beruhen können. Daß die Adsorptionsaffinität im Liquor klein ist, dürfte sicher sein, da diese Körperflüssigkeit ja relativ eiweißfrei ist. Bezüglich des ZNS könnte man sich denken, daß seine Eiweißkörper den Farbstoff nicht adsorbieren können, und daß daher die Adsorptionsaffinität des ZNS genau so klein ist wie die des Liquors. Dazu kommt die Möglichkeit, daß andere physikalische Faktoren (Löslichkeitsverhältnisse usw.) dazu beitragen können, die Affinität für den Farbstoff im ZNS besonders klein zu machen. Ein solcher Mangel an Adsorptionsfähigkeit speziell der Nerven- und Gliazellen sieht vielleicht merkwürdig aus. *King* (1938, 1939) hat jedoch durch genaue mikroskopische Untersuchungen klargestellt, daß alle nicht-mesodermalen Zellen im Körper nach einer intravenösen Injektion von Trypanblau ungefärbt bleiben, während mesodermale Zellelemente eine ausgesprochene Affinität zu diesem Farbstoff haben¹. *King* sucht die Ursachen dafür, daß andere Organe, aber nicht das ZNS makroskopisch gefärbt werden, darin, daß die anderen Organe mehr oder weniger reichlich Bindegewebe enthalten, d. h. also Zellelemente mit großer Affinität zu sauren Farbstoffen, während innerhalb des ZNS nur wenig Bindegewebe vorkommt.

Dieser Erklärungsversuch scheint also die Theorie einer BHS überflüssig zu machen. Es sind jedoch auch andere Erklärungen möglich für die Sonderstellung des ZNS gegenüber den übrigen Organen in diesen Färbungsversuchen.

Die Abbautheorie².

Es ist bekannt, daß der Stoffwechsel im ZNS relativ groß ist im Vergleich zu dem der meisten anderen Organe des Körpers. Inwieweit auch ein qualitativer Unterschied vorliegt, ist nicht klar, doch hat man Anlaß, mit einer solchen Möglichkeit zu rechnen. So scheint es nicht undenkbar, daß das ZNS schneller und effektiver als andere Organe gewisse Substanzen abbauen könnte. Das Methylenblau gibt uns ein Beispiel dafür, wie ein Farbstoff durch den Stoffwechsel im Organismus zu einem ungefärbten Farbstoff (Leukomethylenblau) verwandelt (reduziert) wird. Postmortal tritt jedoch aufs neue eine deutliche Blaufärbung durch Oxydation von Organstückchen ein, auch im ZNS, in welches das Methylenblau auf Grund seiner basischen Natur einzudringen vermag.

Im Trypanblauversuch könnte eventuell das Fehlen der Färbung im ZNS analog erklärt werden. Trypanblau und andere saure Farb-

¹ Das gilt nur für akute Versuche. In chronischen Versuchen sieht man eine sog. granuläre Speicherung des Farbstoffes in den Epithelzellen, was man nach *King* jedoch nicht ohne weiteres als Beweis für eine Affinität des Zellplasmas für den betreffenden Stoff ansehen darf. — ² Diese Theorie habe ich nicht veröffentlicht finden können; ich nehme sie hier aber auf, da ich ihr in Diskussionen begegnet bin und sie vollständig logisch motiviert ist.

stoffe sollten nach dieser Theorie also ins ZNS eindringen können, aber zufolge eines spezifischen Stoffwechsels hier so schnell abgebaut werden, daß sie niemals nachgewiesen werden können¹.

Die Theorie, die den spezifischen Schrankeneffekt an die einzelnen Nerven- und Gliazellmembranen verlegt.

Dieser Theorie nach gibt es eine Schranke, die an die einzelnen Nerven- und Gliazellenmembranen im ZNS gebunden ist, während die Theorie der BHS den Barriereneffekt im Gebiet der cerebralen Gefäße sucht (Schmid 1931, 1936). Wir wissen, daß verschiedenartige Zellen beträchtlich voneinander in bezug auf ihre Permeabilitätseigenschaften abweichen können. Man hat also Grund, anzunehmen, daß die Nerven- und Gliazellen — eventuell alle nicht mesodermalen Zellen — sich von den übrigen Zellen im Körper in bezug auf ihre Permeabilität unterscheiden. Ist das der Fall, so ist es nicht korrekt, von einer BHS zu sprechen, sondern man müßte diesen Ausdruck ersetzen, etwa durch „Nerven-Gliazellenmembranschranke“ bzw. „die Schranke der nichtmesodermalen Zellen“.

Die hier angeführten Theorien können jede für sich — ohne daß man die Theorie einer BHS zu Hilfe nimmt — den 1. Goldmannschen Versuch erklären. Dagegen können diese Theorien nicht ohne weiteres erklären, daß der Farbstoff in Goldmanns Versuch Nr. 2 auf dem Weg über den Liquor ins ZNS eindringen kann. Man muß die speziellen Verhältnisse in diesem Versuch einzeln untersuchen, um eine Erklärung dafür zu finden.

Erstens besteht die Möglichkeit, daß die Konzentration des diffusiblen Farbstoffes in der Regel nach der Injektion in den Liquor erheblich höher war als nach der Injektion in die Blutbahn, weil ja der größte Teil des Farbstoffes an die Bluteiweißkörper adsorbiert wird. Es wäre daher denkbar, daß der Farbstoff auf dem Weg über den Liquor ins ZNS einzudringen und es zu färben vermag, trotz eventuell vorliegenden Affinitätsmangels, Abbaues oder einer relativen Zellmembranschranke.

Zweitens könnte man sich vorstellen, daß der Eingriff einer Farbinjektion in den Liquor und die dadurch hervorgerufene Reizung mit der sich anschließenden Zellschädigung in den Meningen („Trypanblau-Meningitis“) und in der Außenschicht des ZNS zu veränderten Affinitäts-, Stoffwechsel- oder Zellpermeabilitätsverhältnissen führt, wobei die Passage des Farbstoffes in die geschädigten Zellen als Sekundärerscheinung auftreten könnte.

¹ Natürlich hindert einen nichts, diese Überlegung auf alle nichtmesodermalen Zellelemente zu erstrecken.

Eigene Untersuchungen.

1. Untersuchungen über die Farbstoffverteilung im Organismus nach massiven Farbstoffinjektionen in kurz dauernden Versuchen.

Jede Vitalfärbung einer Zelle im Organismus ist sowohl von den Permeabilitätsverhältnissen wie auch von den Affinitätsfaktoren abhängig. Es sei mir erlaubt, an dieser Stelle *Kings* Definition der Affinität anzuführen: "By the term 'affinity' I mean the diffuse union of dye and tissue elements, antecedent to any colloido-pexic or granular storage by discrete cells. Synonymous with 'affinity' is 'binding-power' The bond of union between dye and tissue may be a phenomenon of adsorption, but in the absence of positive data the more none-committal term of 'affinity' is adequate".

Das Bindegewebe hat, in Übereinstimmung mit seiner Funktion als säure-adsorbierendes Organ, eine besondere Affinität zu sauren Farbstoffen (vgl. *Schades* 3-Kammersystem. *Schade* 1935). Das tritt deutlich beim Vitalfarbversuch der Natur, dem Ikterus, zutage. *Kings* Untersuchungen bestätigen die große Affinität des Bindegewebes für saure Farbstoffe. Er fand bemerkenswerterweise, daß die nicht mesodermalen Gewebe *vollständig* ungefärbt bleiben. Wenn die Adsorption den dominierenden Affinitätsfaktor darstellt — was wahrscheinlich ist — so müßten Zellen ohne Adsorptionsvermögen doch eine Färbung aufweisen, die der frei diffusiblen (= nicht durch Adsorption gebundenen) Farbstoffkonzentration entspricht. Diese Konzentration müßte nach dem Eintritt des Gleichgewichtes gleich groß im Blut, den Geweben und dem Liquor sein, für den Fall, daß keine Permeabilitäts-schranken oder Sekretionserscheinungen eine Rolle spielen. Wir wissen, daß man bei großen Farbstoffdosen einen kleinen Farbstoffdurchtritt in den Liquor feststellen kann. Ist es da nicht wahrscheinlich, daß unter gleichen Bedingungen auch in die nichtmesodermalen Zellelemente eine Passage stattfindet?

Um diese Frage zu klären, habe ich die Versuche mit intravenöser Injektion von Trypanblau wiederholt.

Will man sich mikroskopisch ein Bild über die Farbstoffverteilung im Leben machen, so ist es natürlich von grundlegender Bedeutung, daß man eine post-mortale Diffusion des Farbstoffes vom Blut oder von gefärbten Zellelementen aus in eventuell ungefärbte Zellen hinein vermeidet. Das setzt schnelles und genaues Ausspülen der Gefäßbahnen voraus und eine schnelle Entwässerung der mikroskopischen Präparate (die betreffenden Farbstoffe sind unlöslich in Xylol und können also nicht mehr diffundieren, nachdem das Präparat in diese Flüssigkeit gelangt ist).

Ich habe den Gefäßinhalt mit Tyrode mittels einer Aortenkanüle ausgespült, bei einem Druck, der ungefähr dem normalen Blutdruck des Versuchstieres entspricht. Es wurde in caudaler Richtung ausgespült, was zusammen mit dem Fixieren in Formalin auf dem Gefäßweg ungefähr 3—4 Min. in Anspruch nahm. Darauf wurde auf dieselbe Weise in kranialer Richtung ausgespült. Der Farbstoff im Blut hat also länger Zeit gehabt, postmortal ins ZNS zu diffundieren als in die Baucheingeweide.

Mikroskopische Präparate sind teils mit Paraffineinbettung, teils mit Gefrierschnitten hergestellt worden. Erstere wurden unmittelbar in 100% Alkohol gelegt und nach 1—2 Stunden in Xylol überführt. Sowie die Präparate durchsichtig geworden waren, wurden sie in Paraffin gelegt, danach geschnitten. Die Gefrierschnittpräparate sind unmittelbar sowohl in dicke (200 μ) wie dünne (20 μ) Schnitte geschnitten, danach in 100% Alkohol entwässert worden. Diese Entwässerung geht rascher vorstatten als die bei Paraffineinbettung, ist jedoch mit größerer Gefahr für einen Verlust an Farbstoff von der großen Schnittoberfläche aus in den Alkohol hinein verbunden. Die am schnellsten entwässerten Schnitte kamen in Xylol 20—30 Min. nach dem Tod des Tieres.

Die Untersuchungen wurden an 2 Meerschweinchen, 2 Kaninchen und 2 Katzen durchgeführt. Sehr hohe Farbstoffdosen kamen zur Anwendung (35—100 ccm 1% Trypanblaulösung in Tyrode pro Kilogramm Körpergewicht). Die Tiere wurden 15—60 Min. nach Beginn der Injektion getötet. Zur Herstellung mikroskopischer Präparate wurden aus dem ZNS, dem Auge, dem Embryo und der Placenta (in 2 Fällen), der Leber, Milz, den Nieren, der Ohrspeicheldrüse, dem Darm, dem Magen und den quergestreiften Muskeln Stücke entnommen.

Alle Untersuchungen haben zu eindeutigen Ergebnissen geführt: eine Färbung des ZNS oder des Embryo kam niemals vor, während eine schwache, aber deutliche diffuse Farbdurchtränkung im Parenchym bzw. in den Epithelzellen in sämtlichen untersuchten Organen nachgewiesen werden konnte (einige Nierenkanälchen und die Epithelzellen im Ventrikel waren sogar ausgesprochen gefärbt, was vermutlich auf postmortale Färbung vom Inhalt aus zurückzuführen ist). Gefäßwände und Bindegewebe zeigten in sämtlichen Organen eine kräftige Färbung, ausgenommen im ZNS, wo sie ungefärbt waren.

Der Gegensatz zwischen *Kings* und meinen eigenen Ergebnissen dürfte mehr scheinbar als wirklich sein und kann wahrscheinlich damit erklärt werden, daß ich in meinen Versuchen sehr große Farbstoffmengen angewendet habe. Nach Anwendung kleinerer Farbstoffmengen findet man, daß der Farbstoff sich nur am Bindegewebe konzentriert, so daß er die Sichtbarkeitsgrenze überschritt, während die Färbung der Epithelzellen dabei zu schwach ausfällt, als daß man sie mikroskopisch nachweisen könnte. Eine postmortale Farbendiffusion von den stark gefärbten Bindegewebslementen in die Epithelzellen hinein kann man unmöglich mit Sicherheit ausschließen, doch kann sie — wenigstens bei den Gefrierschnitten — keine größere Rolle gespielt haben. Hier dürfte eher — wie schon erwähnt — die Gefahr vorliegen, daß Farbstoffverluste durch Diffusion in den Alkohol hinein von der gesamten Schnittfläche aus auftreten.

Es sieht also so aus, als ob die epithelialen Zellen eine Affinität zum Farbstoff hätten, auch wenn diese Affinität bedeutend weniger ausgesprochen ist als die des Bindegewebes, und vielleicht nur darin besteht, daß die Epithelzellen eine Farbstoffkonzentration aufbringen, die der im Bindegewebsraum frei diffusiblen Farbstofffraktion entspricht. Wenn die Farbstoffe nicht so leicht die Epithelzellen in den Nieren passierten, so würden sie nicht so schnell in den Urin ausgeschieden. Mein Resultat stimmt auch bedeutend besser als *Kings* Ergebnis mit der Auffassung überein, die wir von der granulären Speicherung in lang dauernden Farbversuchen haben, nämlich daß diese ein zweites Stadium nach einer vorhergehenden diffusen Farbdurchtränkung ist. Eine deutliche granuläre Speicherung tritt auch in solchen Versuchen gerade in den Epithelzellen verschiedener Organe auf, jedoch niemals innerhalb der Nerven- und Gliazellen in einem ungeschädigten ZNS.

Schlußfolgerung.

Es ist also klar, daß die Zellen innerhalb des ZNS eine Sonderstellung einnehmen gegenüber den Zellen in anderen Organen. Auch nach den kräftigsten intravenösen Trypanblaudosen bleiben sämtliche Zellarten (sowohl die mesodermalen wie die nichtmesodermalen) innerhalb des ZNS vollständig ungefärbt im Gegensatz zu allen anderen Zellen im Körper. Dies kann schwerlich nur als Affinitätsmangel aufgefaßt werden. Andererseits spielen Affinitätsfaktoren deutlich eine sehr große Rolle im Hinblick auf die Verteilung des Farbstoffes auf die verschiedenen

Zellen des Organismus. So zeigt das Bindegewebe, das eine starke Affinität zu sauren Stoffen hat, eine sehr kräftige Färbung, während andere Zellelemente verhältnismäßig schwach gefärbt sind.

2. Untersuchungen über das Verhältnis des Farbstoffes zu den cerebralen Gefäßen.

An den oben referierten Untersuchungen habe ich auch Gelegenheit gehabt, das Verhältnis des Farbstoffes zu den cerebralen Gefäßen zu beurteilen. Frühere Untersuchungen darüber haben zu widersprechenden Ergebnissen geführt. Nach einigen Verfassern (*Riser 1929, Spatz 1933*) sollen die cerebralen Gefäße keine Färbung aufweisen. Entgegengesetzte Ansichten sind von anderer Seite geäußert worden. So sagt *Wislocki 1938*, der sich auf *Kings* Untersuchungen stützt: "...the mesoderm follows all the vessels of the brain down to the precapillary arterioles, ...these sheets of connective tissue can be demonstrated to take up the trypan blue, showing that the endothelium of these arteries down to the finest ramifications is permeable to the dye and the surrounding mesoderm, when it is there, will absorb the dye. But as soon as the mesodermal sheet is lost in the capillary area and where the vessels are surrounded solely by the glial type of tissue, the specific brain tissue, there the dye fails to enter because of this relationship that *King* is pointing out".

In meinen Versuchen, auch in denen mit den größten Farbstoffdosen, sind sowohl die cerebralen Gefäße selbst wie auch das perivasculäre Bindegewebe immer vollständig ungefärbt geblieben. Dasselbe habe ich in den 200—300 Tierversuchen feststellen können, die ich ausgeführt habe, um nach regionaler Schädigung der cerebralen Gefäße die Farbstoffpassage ins ZNS zu studieren. Innerhalb unbeschädigter Teile des ZNS sind die Gefäße stets ungefärbt geblieben, im Gegensatz zu den oft stark gefärbten Gefäßen innerhalb der geschädigten Region. Nur nach unvollständigem Ausspülen des Gefäßinhals ist Farbstoffpassage in und durch die Gefäßwände vorgekommen, die dann sicher postmortal stattgefunden hatte. Ich habe auch mehrere Beobachtungen *in vivo* an den Piagefäßen gemacht, die sich — was die Permeabilität betrifft — genau wie die intracerebralen Gefäße verhalten. Dabei zeigte sich, daß der i. v. injizierte Farbstoff normalerweise niemals in die Gefäßwände oder in das perivasculäre Gewebe eindringt. *Kings* und *Wislocki*'s Ergebnisse dürften darauf beruhen, daß sie postmortal nicht ausgespült haben.

Daß sämtliche cerebralen Gefäße (Arterien, Capillaren und Venen), sowie das perivasculäre Bindegewebe ungefärbt bleiben, steht in auffälligem Gegensatz zu dem sonstigen Verhalten von Gefäßen und Bindegewebe im übrigen Organismus, wo gerade diese Gewebselemente eine kräftige Färbung aufweisen.

Aus dieser Beobachtung kann man schließen:

1. Die ausgesprochene Affinität von Gefäßwänden und perivasculärem Bindegewebe im Gesamtorganismus macht einen lokalisierten Mangel an Affinität dieser Gewebselemente im ZNS unwahrscheinlich.
2. Die Theorie, daß der nachgewiesene Schrankeneffekt an den Membranen der einzelnen Nerven- und Gliazellen lokalisiert ist, kann von der Diskussion ausgeschlossen werden, nachdem es bewiesen ist, daß der Farbstoff niemals auch nur an diese Zellen herankommt.

3. Die Theorie einer an die Intima der cerebralen Gefäße lokalisierten BHS wird von der obigen Beobachtung erheblich gestützt.

Diese 3 Schlußfolgerungen werden außerdem noch dadurch gestützt, daß mehrere Forscher beobachtet haben, daß die Nervenzellen in den peripheren Ganglien in den gewöhnlichen Trypanblauversuchen stets gefärbt werden.

3. Kann Trypanblau durch Gehirnsubstanz abgebaut werden?

Die Untersuchungen sind am Katzengehirn ausgeführt worden. 2 g Hirnsubstanz von einer kurz vorher getöteten Katze wurden mit 10 ccm Phosphatpuffer (p_H 7,3) zu einem Brei verrührt, der eine p_H von 7,0 hatte. Thunberg-Röhren wurden folgendermaßen beschickt:

Röhre	1	2	3	4
Trypanblau 1:100000 . .	0,5 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm
Gehirnbrei	1,5 ccm	1,5 ccm	1,0 ccm	1,0 ccm

Die Röhren 1 und 3 wurden evakuiert. Alle Röhren wurden danach in ein Wasserbad von 37° C gesetzt und 3—4 Stunden beobachtet. In den Röhren 1 und 2 mit den geringsten Farbstoffmengen war die Färbung schon von Anfang an so schwach, daß sie gerade noch sichtbar war. Ein unbedeutender Abbau wäre daher hier ausreichend zur Entfärbung. Es zeigte sich jedoch, daß keinerlei Entfärbung in einer der Röhren auftrat.

Es gibt also keine Anhaltspunkte dafür, daß das ZNS durch seinen Stoffwechsel Trypanblau abzubauen oder es in eine Leukoverbindung zu verwandeln vermag. Dieser Schlußsatz stimmt auch gut mit der nunmehr allgemein vertretenen Auffassung überein, daß nicht die chemischen Eigenschaften der Farbstoffe, sondern ihre physikalischen — vor allem ihre elektrische Ladung — darüber entscheiden, ob das ZNS den Farbstoff auf dem Blutweg aufnehmen kann oder nicht (v. Moellendorff, Spatz 1933, Friedemann 1936, Wislocki und King 1936 u. a.).

4. Untersuchungen über die Farbpassage vom Blut via Liquor ins ZNS.

Nach der Ansicht mehrerer Verfasser kann Trypanblau in genügend hoher Blutkonzentration in den Liquor passieren. Diese Farbpassage ist zwar ziemlich gering, aber es wäre doch eigentlich, wenn das ZNS dabei nicht in gleicher Weise gefärbt würde wie in Goldmanns 2. Versuch mit endoneuraler Zufuhr von Farbstoff.

Um diesen Sachverhalt zu untersuchen, habe ich im Tierversuch besonders große Farbstoffdosen intravenös in kurzer Zeit infundiert (etwa $\frac{1}{2}$ Stunde). Es hat sich jedoch gezeigt, daß große Farbstoffmengen an und für sich unzureichend sind, um in kurz dauernden Versuchen zu einer deutlichen Farbaufnahme des ZNS aus dem Liquor zu führen — zumindesten beim Meerschweinchen, das mit kräftiger Blutdrucksenkung auf eine Injektion von Trypanblau reagiert. Dagegen gelang es bei gleichzeitiger Anwendung von Adrenalin, eine erhöhte Passage von Trypanblau in den Liquor zu erreichen (vgl. den auxoneurotropen Effekt des Adrenalins) und dabei auch eine deutliche Färbung des ZNS hervorzurufen. Damit der Versuch Beweiskraft erhält, muß man natürlich genauestes Ausspülen der Färbeflüssigkeit nicht nur aus den Gefäßbahnen, sondern auch aus dem Liquorraum fordern, um postmortale Färbung zu vermeiden.

Untersuchungen dieser Art sind an mehreren Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen ausgeführt worden. Die Färbung des ZNS war vor allem an den Wänden

des inneren Liquorraumes lokalisiert, während die äußere Oberfläche des ZNS bedeutend schwächer gefärbt war. Dies dürfte damit zusammenhängen, daß die Farbstoffpassage in diesen Versuchen vor allen Dingen über den Plexus chorioidei stattfindet und nicht über die meningealen Gefäße und daß der Farbstoff ferner auf seinem Weg in den Subarachnoidalraum in großem Ausmaß von der Substanz des ZNS absorbiert wird.

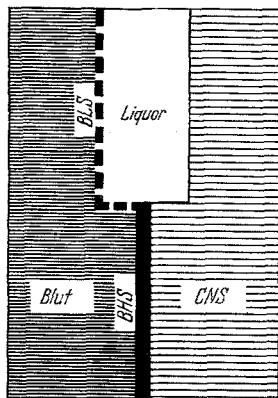


Abb. 2.

Schematische Darstellung des zentralnervösen Schrankensystems. Die verschiedenen Nuancen bezeichnen die verschiedenen Milieu (Affinitäts-)faktoren. Die Schrankenmembran selbst ist mit einer dicken schwarzen Linie gezeichnet, wobei die sichergestellte Blut-Hirnschranke durch eine besonders dicke Linie bezeichnet worden ist, während die weniger sichere und auf jeden Fall weniger effektive Blut-Liquorschranke mit einer gestrichelten und dünnen Linie gezeichnet ist.

Farbstoffpassage über das Blut führen, wenn keine andere Schranke vorläge.

2. Die Theorie, daß beim Weg über den Liquor in Goldmanns 2. Versuch eine primäre toxische Schädigung der Zellen des ZNS die Ursache der Farbstoffpassage wäre, hat keinen Halt, denn hierdurch bleibt das Fehlen des Farbstoffdurchtritts auf dem Weg über das Blut unerklärt; derselbe toxische Schaden müßte sich ja auf diesem Weg geltend machen.

3. Nur mit Hilfe der Theorie einer BHS kann das Versuchsergebnis erklärt werden. Der Farbstoff passiert nicht die BHS, kann aber bei hoher Konzentration im Blut und bei günstigen Bedingungen für die Liquorpassage die BHS umgehen und auf dem Weg über den Liquor ins ZNS eindringen.

¹ Am Meerschweinchen erhält man jedoch in vereinzelten Versuchen eine punktartige Farbstoffpassage. Das wurde niemals an Kaninchen oder Katzen beobachtet. In einer späteren Publikation werde ich ausführlich über diese Versuche berichten.

Zusammenfassung.

Das ZNS ist, ohne daß ein Eingriff in den Subarachnoidalraum vorgenommen wurde, der Einwirkung des Farbstoffes gleichzeitig und unter gleich langer Zeitspanne von seiten des Blutes und des Liquors ausgesetzt worden. Die Konzentration des diffusiblen Farbstoffes dürfte auf seiten des Liquors vergleichbar und kaum höher als die auf seiten des Blutes gewesen sein. Der Erfolg war, daß der in den Liquorraum eingedrungene Farbstoff die Oberflächenschicht des ZNS färbte, während das sonstige ZNS vollständig ungefärbt blieb¹.

Schlußfolgerungen.

1. Das Fehlen einer Farbstoffpassage auf dem Weg über das Blut ins ZNS kann nicht durch Adsorption des Farbstoffes an die Bluteiweiße erklärt werden. Im Blut ist eine genügend große Menge frei diffusiblen Farbstoffes für die Färbung auf dem Weg über den Liquor vorhanden und könnte so auch zur

In gewöhnlichen Versuchsanordnungen mit paraneuraler Zufuhr großer Mengen Trypanblau ist augenscheinlich eine Farbstoffpassage ins ZNS auf dem Weg über den Liquor möglich. Bei gewöhnlichen Versuchsbedingungen dürfte diese Möglichkeit jedoch gering sein, da ja die Konzentration des Farbstoffes im Liquor ziemlich geringe Werte erreicht. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß eine Anhäufung von Farbstoff in denjenigen Regionen des ZNS zustande kommen kann, die an das Ventrikelsystem grenzen, wenn nämlich die Konzentration des Farbstoffes im Blut groß ist und sich der Versuch über lange Zeit erstreckt. Es erscheint nicht unwahrscheinlich, daß die Färbung des ZNS, die Behnsen in seinen Versuchen an erwachsenen und besonders an neugeborenen Ratten beobachtet hat, auf eine derartige Farbstoffpassage auf dem Weg über den Liquor zu beziehen ist. Die Ausbreitung der Färbung im ZNS in seinen Versuchen scheint gut mit dieser Annahme übereinzustimmen.

Den Zusammenhang zwischen dem Eindringen des Farbstoffes ins ZNS und der toxischen Beeinflussung, die sich in Goldmanns 2. Versuch geltend macht, darf man kaum als eine primäre toxische Schädigung mit sekundärer Farbstoffpassage auffassen, sondern eher auf folgende Weise: der Farbstoff dringt auf dem Weg über den Liquor unbehindert ins ZNS ein und wirkt deshalb bei dieser Art der Zufuhr toxisch. Von seiten des Blutes ist die Passage verhindert, daher kann von dieser Seite kein toxischer Einfluß aufs ZNS ausgeübt werden.

5. Untersuchungen über die Farbstoffpassage ins ZNS auf dem Blutwege unter postmortalen Bedingungen.

Es hat sich in meinen Versuchen herausgestellt, daß das ZNS von einer Trypanblaulösung, mit der man 15—30 Min.¹ lang nach dem Tode des Tieres die cerebralen Gefäße durchspült, nicht gefärbt wird (Broman 1938). Auch wenn man eine konzentrierte (ungefähr 0,5%) Lösung von Trypanblau in Gummityrode anwendet und den Vorderteil des Tieres mit dieser Lösung 10—15 Min. lang perfundiert, bleibt nach rascher Ausspülung des Gefäßinhaltes mit ungefärbter Gummityrode nicht die geringste Färbung des ZNS zurück. Alle übrigen kranialen Organe zeigen dagegen eine intensive Blaufärbung, genau wie in Goldmanns 1. Versuch mit intravenöser Injektion des Farbstoffes am lebenden Tier.

Bei dieser Versuchsanordnung müssen die Zellen im ZNS stark geschädigt und vermutlich in großem Ausmaße tödlich verändert sein. Trotzdem nehmen sie keinen Farbstoff auf dem Weg über die Blutbahn auf.

Bei postmortaler Perfusion mit Farbstofflösung kann man an Tieren mit Trepanationsöffnung beobachten, wie das ZNS eine intensive Blaufärbung annimmt, die jedoch nur von der intravasalen Farblösung herrührt und bei Durchspülung mit Gummityrode wieder vollständig verschwindet. Wenn die Farblösung aus verletzten Gefäßen in die Trepanationsränder durchsickert, wird die Gehirnoberfläche an diesen Stellen blau gefärbt und kann nicht mehr mit einer nachträglichen Spülung der Gefäße und der Gehirnoberfläche entfärbt werden.

Hier wird also der Farbstoff in eiweißfreier Lösung von gleicher Konzentration und in gleicher Zeitdauer sowohl auf dem Weg über das Blut wie auf dem über den Liquor zugeführt; das ZNS wird jedoch nur auf dem Weg über den Liquor gefärbt.

¹ Nach einer längeren Zeit wird postmortale Durchspülung tatsächlich unmöglich infolge einer Hirnanschwellung, die nicht einmal mit Gummityrode verhindert werden kann und die vermutlich mit der stark veränderten H-Jonenkonzentration der Gehirngewebe zusammenhängt.

Schlußfolgerungen.

1. Das Ergebnis wird am besten durch die Annahme einer BHS erklärt, die wahrscheinlich in den Gefäßwänden selbst zu lokalisieren ist. Diese Schranke vermag ihre Funktion auch noch eine Zeitlang nach dem Tode aufrecht zu erhalten. Das ist nichts Auffallendes. Die Zellen der Gefäßwände sind „primitiver“ als die des ZNS und vertragen ein Aufhören der Zirkulation länger¹.

2. Die eventuellen Affinitätsfaktoren des Blutes sind ausgeschaltet. Die Nervenzellen sind schwer geschädigt. Diese Faktoren können also keine entscheidende Bedeutung für die Farbstoffpassage haben.

*6. Untersuchungen über die Farbstoffpassage vom Blut ins ZNS
nach Embolieschäden in den cerebralen Gefäßen.*

Diese Untersuchungen werden in einer folgenden Publikation diskutiert, doch soll schon hier hervorgehoben werden, wie sich die Farbstoffpassage bei begrenzten Nekroseherden innerhalb des ZNS verhält. Da diese stets ein Stück distal vom Embolus liegen, findet man eine diffuse Farbdurchtränkung als Folge einer Gefäßwandschädigung vor allem in den Gefäßabschnitten proximal vom Embolus. Der Farbstoff, der das geschädigte Gefäß passiert hat, vermag in der Regel auf Grund des Abstandes des zugehörigen Nekroseherdes nicht in diesen einzudringen. Wird ein Nekroseherd gefärbt², so geschieht das statt dessen von anderen geschädigten Gefäßen aus, die dem Herd näher liegen. Man findet daher in der Regel in ein und demselben Präparat sowohl gefärbte wie ungefärbte Nekroseherde gleichen Alters. Die Zellnekrose führt also offenbar zu einer erhöhten Affinität für Trypanblau in Form einer diffusen Färbung. Der Farbstoff vermag aber nicht die in der Nähe befindlichen normalen Gefäße zu passieren. Soll ein Nekroseherd gefärbt werden, so muß sich ein Gefäß mit abnormen Passageverhältnissen in der Nähe befinden. Das sieht man besonders schön, wenn ein Nekroseherd nur teilweise in die Färbungszone eines geschädigten Gefäßes fällt.

Schlußfolgerung.

Diese Beobachtung ist überhaupt unvereinbar mit allen anderen Erklärungsversuchen, es sei denn mit der Theorie einer BHS. Die Zellschädigung innerhalb des Nekroseherdes, die zu veränderten Affinitäts-, Stoffwechsel- und Permeabilitätsverhältnissen für die nekrotischen Zellelemente führen muß, reicht nicht aus, um zu einer Farbstoffpassage

¹ Die Nervenzellen im ZNS hören freilich schon wenige Sekunden nach dem Aufhören der Zirkulation auf zu funktionieren, sind aber doch erst endgültig nach einigen Minuten tot, verschieden schnell je nach der Region des ZNS. So haben Untersuchungen gezeigt, daß die Zellen in der Gehirnrinde noch nach ungefähr 5 Min. wieder belebt werden können, im Mesencephalon innerhalb von 10—20 Min. und in der Medulla oblongata innerhalb einer halben Stunde nach Aufhören der Zirkulation (Heymans u. Mitarbeiter 1934).

² Die Färbung eines Nekroseherdes tritt sehr deutlich in Form einer diffusen Färbung der nekrotischen Zellelemente hervor. Beachte den Unterschied zwischen *diffuser Farbdurchtränkung* (gleichmäßige Färbung aller Gewebelemente) und *diffuser Färbung* (markierte Färbung von Zellen, besonders der Kerne, ein Zeichen von Zellschädigung). Vgl. Spatz 1933.

zu führen. Dazu ist außerdem noch ein Gefäß mit geschädigter Permeabilität notwendig.

7. Untersuchungen über das Vermögen des Tetanustoxins ins ZNS einzudringen.

Zum Schluß soll kurz ein Sachverhalt berührt werden, der mit den beiden Goldmannschen Versuchen vergleichbar ist und der für das Vorhandensein einer BHS spricht, nämlich die Passage des Tetanustoxins ins ZNS. Tierexperimentell hat man zeigen können, daß das Tetanustoxin bei subcutaner Injektion längs den Nervenbahnen zum ZNS hinaufwandert und die Nervenzellen angreift. Bei intravenöser Einspritzung dagegen können sehr große Toxinmengen vertragen werden, obwohl das Toxin hierbei das ZNS so gut wie augenblicklich erreicht. Ich habe so große Dosen wie die 10000fache D. l. min. in die Cerebralarterien am Meerschweinchen injiziert, ohne daß das geringste zentralnervöse Symptom im Anschluß an die Injektion aufgetreten wäre.

Man hat es hier also mit einem Stoff zu tun mit anerkannt hoher Affinität zum ZNS und toxischer Einwirkung darauf, der trotzdem nicht auf dem Weg über die Blutbahn ins ZNS einzudringen vermag, sondern statt dessen die BHS umgeht, und zwar auf dem Umweg über die peripheren Nerven. Dieser Sachverhalt läßt uns ahnen, daß die BHS eine biologische Bedeutung haben kann, die beachtet werden muß. Es mag hinzugefügt werden, daß das Tetanustoxin nach Untersuchungen von Friedemann und Elkeles negativ elektrisch geladen ist, genau wie die Farbstoffe, die die BHS nicht passieren können.

Zusammenfassend können wir also feststellen:

1. Das cerebrospinale Gewebe hat eine gewisse Affinität zum Farbstoff Trypanblau. Auch wenn das Adsorptionsvermögen eventuell fehlt, kann der Farbstoff doch im Plasma der Zellen und in den interzellulären Geweben gelöst werden. Wahrscheinlich ist die Affinität gering im Vergleich zu dem stark ausgesprochenen Adsorptionsvermögen des Bindegewebes und der Serumweiße für Trypanblau. Das Fehlen einer Farbstoffpassage auf dem Weg über das Blut ins ZNS kann jedoch unmöglich durch den Unterschied in der Affinität zwischen Blut, ZNS und den übrigen Organen erklärt werden.

2. Das cerebrospinale Gewebe kann mits einem Stoffwechsel Trypanblau weder abbauen noch in irgendeine Leukoverbindung verwandeln.

3. Die Membranen der einzelnen Nerven- und Gliazellen können die Passage des Trypanblaus in die Zellen hinein nicht verhindern.

4. Die Ursache dafür, daß der Farbstoff Trypanblau nicht auf dem Weg über die Blutbahn ins ZNS eindringen kann, muß in einem Permeabilitätshindernis zu suchen sein, das zu den allgemeinen Permeabilitäts-eigenschaften der Gefäßwände noch hinzukommt. Das Vorhandensein einer BHS kann somit als sichergestellt gelten.

5. Es gibt sichere Anhalte für die Lokalisation dieser Schranke in der Gefäßwand selbst.

6. Mehrere Beobachtungen weisen darauf hin, daß der für das Trypanblau beobachtete Schrankeneffekt nicht eine vereinzelte Erscheinung ist, sondern die Ursache dafür, daß mehrere andere Farbstoffe und einige ungefärbte Substanzen auf dem Weg über die Blutbahn nicht ins ZNS passieren können. Die BHS dürfte deshalb von großer biologischer Bedeutung sein.

7. Die Existenz einer Schranke zwischen Blut und Liquor ist nicht sichergestellt. Sie ist auf jeden Fall nicht so effektiv wie die sicherstellte BHS, wenn es gilt, die Passage der sauren Farbstoffe zu verhindern. Die Analyse der Passage verschiedener Substanzen in den Liquor darf nicht als Ausgangspunkt einer Beurteilung der Passagebedingungen ins ZNS dienen.

In einer kommenden Publikation werde ich näher auf die Natur und die Bedeutung der BHS eingehen, wobei die unter Punkt 5, 6 und 7 angeführten Probleme weiterhin diskutiert werden.

Literaturverzeichnis.

- Behnsen, G.: Münch. med. Wschr. 1926 I, 1143. — Bennhold, H.: Erg. inn. Med. 42, 273 (1932). — Bromann, T.: Nord. med. Tidskr. 15, 205 (1938). — Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) 80, 59 (1938). — Friedemann, U.: J. of Immun. 32, 97 (1937). — Friedemann, U. u. A. Elkeles: Z. exper. Med. 74, 293 (1930); 80, 212 (1931). — Klin. Wschr. 1932 II, 2026. — Lancet 1934 I, 719. — Goldberg, L.: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) 77, 30, 179 (1937). — Goldmann, E.: Vitalfärbung am Zentralnervensystem. Berlin: G. Reimer 1913. — Heymans, C., F. Jourdan et S. Nowak: C. r. Soc. Biol. Paris 117, 470 (1934). — Kafka, V.: Dtsch. Z. Nervenheilk. 130, 197 (1933). — Arch. f. Psychiatr. 101, 231 (1933). — King, L. S.: The Hemato-encephalic Barrier, Kap. VI. The Circulation of the Brain and Spinal Cord. Baltimore 1938. — Arch. of Neur. 41, 51 (1939). — Mendl, W.: Z. Neur. 117, 148 (1928). — Riser: Le liquide céphalo-rachidien. Paris 1929. — Schade, H.: Die Molekularpathologie der Entzündung. Dresden und Leipzig 1935. — Schaltenbrand u. Bailey: J. Psychol. u. Neur. 35, 199 (1928). — Schmid, H.: Arch. f. Psychiatr. 95, 303 (1931). — J. de Neur. 31, 271 (1936). — Spatz, H.: Arch. f. Psychiatr. 101, 267 (1933). — Allg. Z. Psychiatr. 80, 285 (1924). — Stary, Kral u. Winteritz: Z. exper. Med. 66, 671; 68, 441 (1929). — Stern, L.: Schweiz. med. Wschr. 1923 I, 792. — J. belge Neur. 34, 601 (1934). — Walter, K.: Arch. f. Psychiatr. 101, 195 (1933). — Fortschr. Neur. 7, 213 (1935). — Die Blut-Liquorschranke. Leipzig: Georg Thieme 1929. — Wesselkin, P. N.: Z. exper. Med. 72, 90 (1930). — Wislocki, G. B.: The Circulation of the Brain and Spinal Cord, p. 174. Baltimore 1938. — Wislocki, G. B. and L. S. King: Amer. J. Anat. 58, 421 (1936). — Wittgenstein u. Krebs: Z. exper. Med. 49, 553 (1926).*