

(Aus der Neurologischen Poliklinik des genossenschaftlichen Krankenhauses  
„De Volharding“ te 's-Gravenhage, Nederland.)

## Die Salzsäure-Kollargolreaktion des Liquor cerebrospinalis.

Von

Dr. G. W. Kastein,  
Neurolog.

Mit 11 Textabbildungen (15 Einzelbildern).

(Eingegangen am 12. Oktober 1940.)

*Riebeling*<sup>1</sup> und Fr. *Huffmann*<sup>2</sup> beschrieben 1938 als neue Kolloidreaktion des Liquor cerebrospinalis die Salzsäure-Kollargolreaktion. Es stellte sich bei ihren Untersuchungen heraus, daß der Liquor die Teilchen eines Silbersoles (Kollargol Heyden) gegen Flockung mittels  $\frac{1}{500}$  N-Salzsäure zu schützen vermag. Für die genaue Beschreibung der Technik der Reaktion verweisen wir auf ihre Publikationen. Wir wollen uns in dieser Publikation nur wenig mit den Kurven an sich beschäftigen, die je nach dem pathologischen Prozeß im Zentralnervensystem und dessen Hüllen eine verschiedene Form haben können. Ebenso wenig soll genauer auf den Wert der Reaktion eingegangen werden: nach den Untersuchungen *Briëts*<sup>3</sup> aus dem Laboratorium der Psychiatrischen Klinik in Leiden (Prof. Dr. *Carp*) an mehr als 100 Liquoren schizophrener Patienten und nach eigenen Untersuchungen an 150 Liquoren meiner Poliklinik ist die Reaktion zuverlässig, weniger von zufälligen Faktoren abhängig und für pathologische Veränderungen des Liquors empfindlicher als die Goldsolreaktion, wie auch *Riebeling* und *Huffmann* in ihren ersten Publikationen schon feststellten. Zur Auswertung der verschiedenen Kurvenformen ist auch nichts hinzuzusetzen — das Wesentliche wurde von den genannten Autoren festgestellt und ich habe keine ihren Mitteilungen widersprechenden Befunde erhoben. Mit dieser Publikation wird lediglich beabsichtigt, einen Beitrag zum Verständnis der kolloid-chemischen Prozesse bei der Reaktion zu liefern.

Fr. *Huffmann* gibt als Erklärung für das Auftreten der normalen Schutzzone und der pathologischen Fällungs-Schutzzone — und *Riebeling* scheint sich dabei in einer zeitlich späteren Publikation anzuschließen — die folgenden Sätze:

„Die Schutzwirkung von negativem Liquor ist nach dem Ausfall der geschilderten Versuche an eine dialysabele Substanz gebunden, am wahrscheinlichsten kann man dabei ein Eiweißspaltprodukt, vielleicht ein Polypeptid, in Erwägung ziehen. Anders verhält es sich mit dem

<sup>1</sup> *Riebeling*: Klin. Wschr. 1938 I, 501.

<sup>2</sup> *Huffmann, Elisabeth*: Arch. f. Psychiatr. 109, 31 (1938).

<sup>3</sup> *Briët*: Akademische Doktorarbeit Leiden 1940.

Faktor, der im pathologischen Liquor die charakteristische Fällungsschutzzone verursacht; es ist uns niemals gelungen, ihn in Salzsäure, Wasser oder Kochsalzlösung dialysieren zu lassen<sup>1</sup>."

Die beiden Untersucher meinen demnach, daß die normale und pathologische Kurvenform verursacht werden durch das Auftreten eines bestimmten unbekannten schützenden Faktors bzw. eines bestimmten unbekannten fällenden Faktors. Auf die Grundlegung dieser Theorie, die in vielfältigen Versuchen besteht, wollen wir hier nicht genauer eingehen. Obwohl wir das wichtige Verdienst der genannten Untersucher, mit der Salzsäure-Kollargolreaktion die Laboratoriumsuntersuchung des Liquors bereichert zu haben, völlig anerkennen, scheinen uns jedoch ein Teil ihrer Untersuchungen zur *Erklärung* der Reaktion unbeweisend bzw. irreführend und ihre theoretischen Erklärungen demzufolge nicht richtig zu sein. Im folgenden werden wir hin und wieder darauf zurückkommen. Wir werden die Kritik zu ihren Untersuchungen größtenteils weglassen und hauptsächlich die eigenen Untersuchungen und ihre theoretischen Deutungen darstellen, aus denen unseres Erachtens durch Exklusion die Unrichtigkeit der *Huffmann-Riebelingschen* Theorie genügend hervorgeht.

#### Voraussetzungen zur Erklärung der Salzsäure-Kollargolreaktion.

Bei der Salzsäure-Kollargolreaktion können hauptsächlich vier Faktoren eine Rolle spielen. Wir haben eine gegenseitige Beeinflussung von

a) einem negativ geladenen lyophoben Sol (dem Silbersol Kollargol),  
b) verschiedenen lyophilen und amphoteren Solen (die Mischung der kolloidalen Lösungen der Globulin- und Albuminfraktionen),

c)  $H^+$ -Ionen in verschiedener Konzentration (das  $HCl$ , das bei der Reaktion verwendet wird, ist stark dissoziiert und wirkt in der Reaktionsaufstellung nur mittels seiner  $H^+$ -Ionen),

d) einem meist alkalischen, selten sauren (bei Meningitis) Milieu mit Pufferwirkung (der Liquor reagiert alkalisch —  $p_H$  7,35—7,40 — und hat eine Alkalireserve, die in ihrer Höhe [50—60 %] etwa übereinstimmt mit der des Serums).

Von diesen vier Faktoren sind die drei letzteren variabel. Die hinzugefügte Menge der Salzsäure nimmt vom ersten bis zum letzten Röhrchen zu und damit die hinzugefügte Menge der  $H^+$ -Ionen; die Menge des Eiweißes nimmt vom ersten bis zum letzten Röhrchen ab und variiert mit dem Eiweißgehalt des zu untersuchenden Liquors; die Fraktionen der Globuline und der Albumine variieren als Ganze (verschiedene Globulin-Albuminquotienten bei den zu untersuchenden Liquoren) und variieren in sich (verschiedene Zusammenstellung der Globulin- und Albuminfraktionen bei pathologischen Liquoren); schließlich ist die Alkalireserve der zu untersuchenden Liquoren verschieden und ebenso das adsorbierende Vermögen der amphoteren Eiweißteilchen.

<sup>1</sup> Arch. f. Psychiatr. 109, 44 (1938).

Weniger theoretisch gesagt: die Total-Eiweißmenge, die Eiweißfraktionen und die  $p_H$  werden von vornherein einen Einfluß auf den Ausgang der Reaktion haben. Mit Modellversuchen und Variationen in der Versuchsaufstellung sind diese Faktoren vor uns untersucht worden.

### Die Total-Eiweißmenge.

Die Totalmenge der hydrophilen Sole (bzw. der E.T. des Liquors) ist von Einfluß auf die Länge der Schutzzone. Sehr einfach läßt sich das mit verdünntem Serum feststellen. Mit verdünntem Serum bekommt man Kurven von demselben Typus wie mit normalem Liquor (*Huffmann* und *Riebeling*): nach einer bestimmten Schutzzone sieht man eine kürzere oder längere Fällungszone. Je stärker die Verdünnung, je kürzer die Schutzzone. Dasselbe nimmt man wahr bei dem Peptonsol und bei einem Kohlehydratsol, wie dem Agarsol (Abb. 1).

Die Beziehung zwischen dem Gehalt an disperser Phase des hydrophilen Soles und der Fällung des Silbersoles ist jedoch nicht so einfach

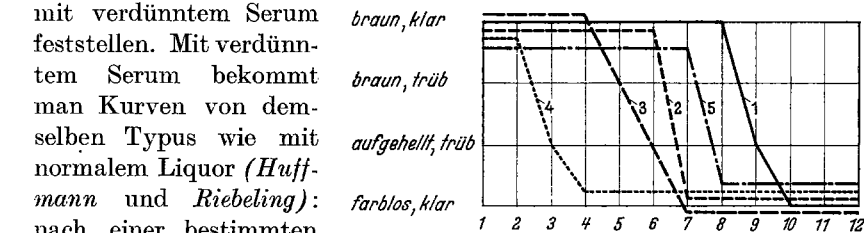


Abb. 1. 1 Serum 1/300, 2 Serum 1/600, 3 Pepton 120 mg-%, 4 Pepton 60 mg-%, 5 Agar 1/1000.

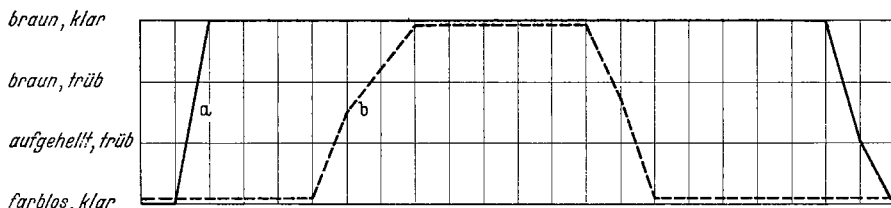


Abb. 2. Per Röhren; 1 cm<sup>3</sup> 1/500 N Salzsäure plus, 2 cm<sup>3</sup> 1/10 000 Collargol plus,  
a) 1 cm<sup>3</sup> verdünntes Serum (von 1/10 bis 1/4800) ———,  
b) oder 1 cm<sup>3</sup> 900 mg-% bis 5 mg-% Peptonsol - - - -.

wie aus den Kurven der Abb. 1 hervorzugehen scheint. Stellt man Eiweißsole her mit einem viel höheren Eiweißgehalt als es dem normalen Liquor-eiweißgehalt entspricht, oder nimmt man andere hydrophile Sole mit relativ hohem Gehalt an disperser Phase, so sieht man bei diesem hohen Gehalt eine Flockung auftreten. Größere Mengen der hydrophilen dispersen Phase — die jedoch innerhalb der Grenzen der Total-Eiweißmenge bei bestimmten eiweißreichen pathologischen Liquoren liegen — schützen demnach das hydrophobe Silbersol nicht mehr gegen Ausflockung. Mit Peptonsole kann man dieses Verhalten nachahmen (Abb. 2).

Sowohl das verdünnte Serum wie das Peptonhydrosol liefern demnach nur Schutz in mittleren Konzentrationen. Die höheren wie die

niedrigeren Konzentrationen schützen das Silbersol nicht gegen Flockung mit Salzsäure.

Nun bestände die Möglichkeit, daß die Elektrolyte des Serums allein schon imstande wären, bei den geringen Verdünnungen von  $\frac{1}{10}$  das Silbersol zum Ausflocken zu bringen. Kontrollversuche zeigen jedoch, daß das nicht der Fall ist.

*braun, klar*

*braun, trüb*

*aufgehell't, trüb*

*farblos, klar*

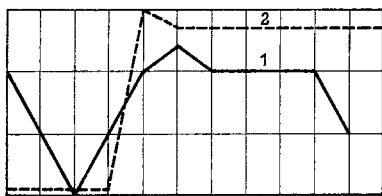


Abb. 3. 2 Punktionen an 2 Tagen bei Subarachnoidealblutung. 1) E.T. 140 mg-%, Albumin 96 mg-%, 2) E.T. 288 mg-%, Albumin 96 mg-%.

der Form von 1 cem  $\frac{1}{500}$  N-Salzsäure oder von  $\frac{1}{2}$  cem 30 mg-% Milchsäure, so findet gleich eine Ausflockung des Silbersoles statt.

Aus diesen Versuchen können wir ableiten, daß innerhalb gewisser Grenzen die Total-Eiweißmenge die Ausdehnung der Schutzzone bei der

*braun, klar*

*braun, trüb*

*aufgehell't, trüb*

*farblos, klar*

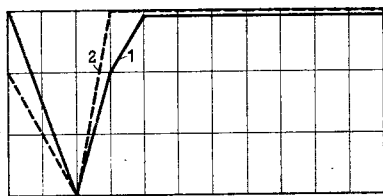


Abb. 4. 1 Meningitis, 2 Froinsches Syndrom.

Flockung auf. Nach Analogie können wir erklären, weshalb bei bestimmten Liquoren mit hohem Eiweißgehalt in den ersten Röhrcchen eine Fällung vorhanden ist (Abb. 3).

Mit dem Vorhergehenden soll nicht gesagt sein, daß *lediglich* die Eiweißmenge die Kurvenform in diesem Liquor bei Subarachnoidealblutung bestimmt; es ist jedoch sehr wahrscheinlich, daß die große Eiweißmenge in den ersten Röhrcchen einen Einfluß mit ausübt auf das Zustandekommen der Fällung des Silbersoles. Zumal da bei Steigerung des Total-eiweißes (speziell der Globulinfraktion) bei der zweiten Punktion die Fällungszone in den ersten Röhrcchen deutlicher wurde (Kurve 2, Abb. 3).

Ähnliche Kurven bei anderen Liquoren mit hohem Eiweißgehalt stellten wir noch fest bei Meningitis und bei Froin'schem Syndrom (Abb. 4).

Wir kommen demnach zur vorläufigen Schlußfolgerung, daß bei *geringem* Totaleiweiß die Länge der Schutzzone mit von dem Eiweißgehalt bestimmt wird, daß bei *hohem* Totaleiweiß jedoch die Fällungszone in den ersten Röhrcchen mit von dem hohen Eiweißgehalt in diesen Röhrc-

Silbersol zum Ausflocken zu bringen. Kontrollversuche zeigen jedoch, daß das nicht der Fall ist. Fügt man jedoch zu einem Gemisch von 2 cem Kollargol  $\frac{1}{10000}$  und 1 cem 10mal verdünntem Serum eine relativ kleine Menge von  $H^+$ -Ionen in

Salzsäure-Kollargolreaktion bestimmt. Je mehr Eiweiß, je länger die Schutzzone. Nimmt die Eiweißmenge noch weiter zu — und erreicht sie Konzentrationen wie bei sehr eiweißreichen Liquoren — so tritt jedoch

chen beeinflußt wird. Auf die theoretische Erklärung kommen wir nachher zurück.

### Die Eiweißfraktionen.

Bei unseren Liquoruntersuchungen mit der Salzsäure-Kollargolreaktion konnten wir keine direkte und einfache Verbindung zwischen

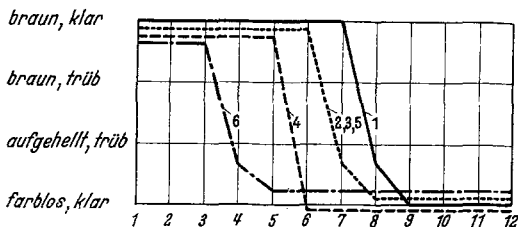


Abb. 5. Fraktion. 1) 2 Vol.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 1 Vol. Serum, 2) 3 Vol.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 1 Vol. Serum, 3) 4 Vol.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 1 Vol. Serum, 4) 5 Vol.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 1 Vol. Serum, 5) 7 Vol.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 1 Vol. Serum, 6) Albuminrest.

der Kurvenform und dem E.Q. finden. Nur war festzustellen, daß Veränderungen des E.Q. oft einhergehen mit Veränderungen der Kurvenform, ohne daß die letztere einen bestimmten Typus aufzeigt.

Fr. *Huffmann* und *Riebeling* stellten Untersuchungen an über den Einfluß von bestimmten Eiweißfraktionen. Mit großen Verschiebungen im E.Q. und in den absoluten Mengen der Fraktionen (mittels Anreicherung mit Albumin oder Globulin) konnten sie keine Veränderungen der Kurvenform erzielen. Es zeigt sich bei meinen Untersuchungen jedoch ohne jeden Zweifel, daß die Art und die Mengen der Eiweißfraktionen die Kurvenform bei der Salzsäure-Kollargolreaktion beeinflussen. Die Versuche wurden gemacht mit den verschiedenen Fraktionen des Serumeiweißes.

Mit steigenden Mengen gesättigter  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung wurden immer weitere Fraktionen der Serumglobuline gefällt. Die Fraktionen wurden abzentrifugiert und in physiologischer Salzlösung wieder aufgeschwemmt. Die so erhaltenen kolloidalen Lösungen der einzelnen Fraktionen wurden sämtlich auf einen Gehalt von 24 mg-% gebracht. Von jeder Lösung wurde eine Normalkurve gemacht. Trotz des gleichen Eiweißgehaltes schützten die verschiedenen Fraktionen in einer ungleichen Zahl von Röhrchen. Die leicht zu fällende Euglobulinfraktion zeigte die längste Schutzzone; die weiteren Schutzzone verkürzten sich, um bei der letzten Globulinfraktion wieder anzusteigen; am kürzesten war die Schutzzone bei dem Albuminrest (Abb. 5 und 6).

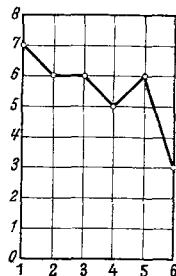


Abb. 6. Zahl der geschützten Röhrchen bei den verschiedenen Eiweißfraktionen. 1, 2, 3, 4, 5, 6 vergleiche Abb. 5.

Je nach der Labilität gegenüber der fällenden Wirkung von  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  ist demnach die Schutzzone der Globulinfraktionen verschieden von Länge und sämtliche Globulinschutzzonen sind länger als diejenige des Albumins.

Bei einer zweiten Versuchsreihe wurden die Globulinfraktionen und die Albuminfraktion des Serums bei Zimmertemperatur 24 Stunden gegen Übermaß von destilliertem Wasser in Kollodiumhüllen dialysiert. Sämtliche sieben Fraktionen aus 2 ccm Serum wurden mit physiologischer Salzlösung auf 10 ccm Flüssigkeit gebracht. Wir erhielten demnach eine Reihe von sieben Röhrchen mit Eiweißfraktionen in  $\frac{1}{35}$  ihrer Serumkonzentration. Von sämtlichen Fraktionen wurde eine Normalkurve hergestellt. Wir zeigen nur die Kurven der Fraktion Globulin I und der Albuminfraktion (Abb. 7).

Es zeigt sich wiederum, daß die Albuminfraktion weniger stützt als die Globulinfraktion (s. auch Abb. 5 und 6): weiter daß die Globulin-

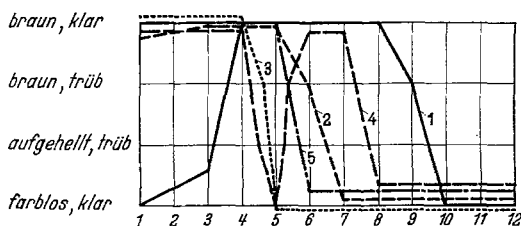


Abb. 7. 1) Globulinfraktion I, 2) Albuminfraktion, 3) normaler Liquor.  
4) normaler Liquor + Globulinfraktion I, 5) normaler Liquor + Albumin.

fraktion bei den höheren Konzentrationen wiederum eine Fällung zur Folge hat. Die Kurve der Globulinfraktion entspricht den Kurven, wie wir sie für hohen Eiweißgehalt typisch befunden haben. Neue Gesichtspunkte öffnen sich hierbei demnach nicht.

Jedoch nach Mischung von  $1\frac{1}{2}$  ccm dieser  $\frac{1}{35}$  Globulinfraktion mit  $8\frac{1}{2}$  ccm eines normalen Liquors zeigt sich eine *Doppelkurve*, wie wir sie bei abnormalen Liquoren finden. Die *Hinzufügung der stark schützenden Globulinfraktion I erzeugt eine zweite Schutzzone in den mittleren Röhrchen* (Kurve 4, Abb. 7). Hinzufügung einer entsprechenden Albuminmenge läßt diese zweite Schutzzone nicht entstehen. Die zweite Schutzzone, die wir vorfinden bei Mischung von normalem Liquor mit geringen Serumengen, ist demnach zurückzuführen auf den Einfluß der Euglobuline des Serums.

Aus diesen hier angeführten Versuchen, die nur einen Teil der ausgeführten Versuchsreihen darstellen, läßt sich ableiten, daß die Art der in den pathologischen Liquoren vorkommenden Eiweißfraktionen und die wechselnden Mengen dieser Fraktionen von ausschlaggebender Bedeutung für das Zustandekommen der diversen abnormen Kurvenformen sein müssen.

*Der Einfluß des  $p_H$ .*

Bei der Standardmethode wird an den Röhrchen von 1—12 eine jeweils steigende Menge Salzsäure zugefügt. Die Menge des Liquors nimmt in jedem folgenden Röhrchen ab, demzufolge auch die Menge der  $H^+$ -Ionen, die von dem normaliter basischen und eiweißhaltigen Liquor neutralisiert und adsorbiert werden können. Es resultiert demnach eine Reihe von Röhrchen mit abnehmendem Eiweißgehalt und abnehmendem  $p_H$ . Beide Faktoren müssen jedoch gesondert untersucht werden, um Einsicht in den Prozeß zu verschaffen.

Um den alleinigen Einfluß des  $p_H$  zu untersuchen, stellten wir eine Versuchsreihe her, bei der das Silbersol und das verdünnte Serum in konstanten Mengen anwesend waren, bei der der  $p_H$  in den aufeinanderfolgenden Röhrchen jedoch zunahm (Abb. 8).

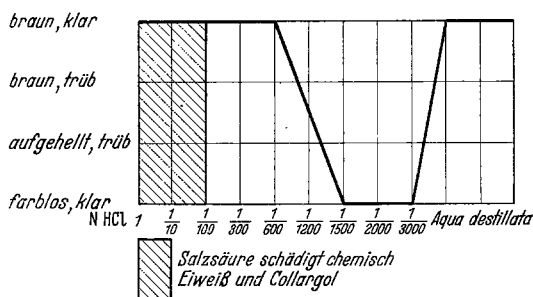


Abb. 8. 2 ccm Silbersol, 1 ccm Serum 1/4000, 1 ccm Salzsäure von 1 N bis 1/5000 N.

Es entsteht eine Fällung in den Röhrchen mit geringen Salzsäurekonzentrationen, etwa von  $1/600$ — $1/3000$  N-HCl bei einer Serumverdünnung von  $1/4000$ . Bei anderen Serumverdünnungen findet man entsprechend höhere oder niedrigere Konzentrationen. Wenn jedoch die Menge der Salzsäure über einen bestimmten Wert gestiegen ist, bleibt bei steigendem Salzsäuregehalt, bis zu 1 N-HCl, die Lösung braun und klar. Zwar tritt bei den höheren Salzsäurekonzentrationen nach einiger Zeit eine Gelbfärbung und schließlich eine Entfärbung auf, jedoch ohne daß ein Niederschlag sichtbar wird. Das HCl schädigt das Silbersol und die Eiweißsole in ihrer chemischen Zusammensetzung.

Bei den uns interessierenden mittleren Konzentrationen sieht man dessenungeachtet bei höheren Konzentrationen keine Fällung, bei kleineren Konzentrationen eine Fällung, während bei den allerkleinsten Konzentrationen und bei destilliertem Wasser das Silbersol in kolloidaler Lösung verharret.

Weil man mit Serum- und Liquorlösungen untersucht, die sowohl eine Pufferwirkung der Elektrolyten wie eine  $H^+$ -Ionen adsorbierende Wirkung ihrer amphoteren Eiweißteilchen aufzeigen, kann man aus der hinzugefügten Menge der Salzsäure keine direkten Rückschlüsse auf den  $p_H$

ziehen. Aus obigen Versuchen geht demnach zwar ein Einfluß des  $p_H$  hervor, jedoch ist dieser nicht genau zu bestimmen. Dazu wurden dann zwei Versuchsreihen eingesetzt:

a) Eiweiß und Silbersol konstant und steigende Salzsäuremenge,

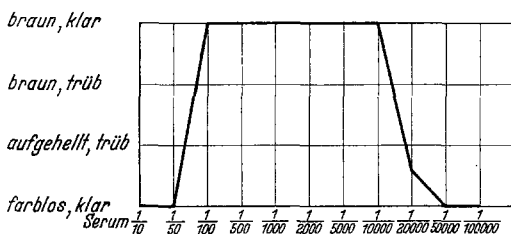


Abb. 9 a. 1 ccm 1/500 N Salzsäure, 1 ccm Serum von 1/10 bis 1/100 000, 2 ccm Silbersol.

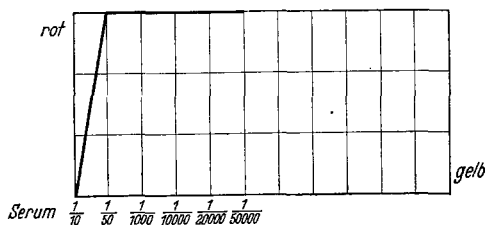


Abb. 9 b. Methylrot:  $p_H$  4,2—6,2.

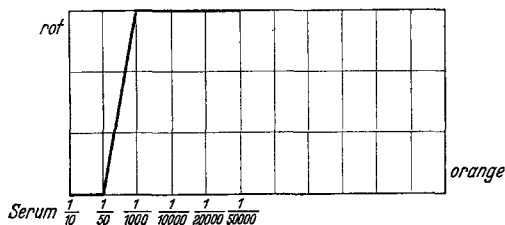


Abb. 9 c. Methylorange:  $p_H$  3,1—4,4.

b) Salzsäuremenge und Silbersol konstant und abnehmende Eiweißmenge.

Neben diesen Kurven wurden dieselben Mengen von Eiweiß und Salzsäure noch einmal in zwei Versuchsreihen eingesetzt, *ohne* Silbersol, jedoch *mit* Indicatoren. Mit Methylrot und Methylorange, die das Gebiet  $p_H$  3,1 bis  $p_H$  6,2 umfassen, stellte sich folgendes heraus (Abb. 9 a, b und c).

Bei den geringen Serumverdünnungen, die die Fällung des Silbersols nicht verhindern können (Serum  $1/10$  und  $1/50$  von Kurve 12 a), ist demnach der  $p_H$  höher als bei den stärkeren Verdünnungen; dies kann nur erklärt werden mittels der Tatsache, daß bei den geringen Verdünnungen die Neutralisierung des  $H^+$ -Ionen durch die puffernden



Serumelektrolyten stärker ist wie auch die Adsorbierung der  $H^+$ -Ionen an die amphoteren Eiweißteilchen. Bei größeren Verdünnungen und entsprechend geringeren Mengen des Puffers und des Eiweißes ist die Neutralisierung und Adsorbierung der  $H^+$ -Ionen entsprechend geringer, der  $p_H$  demnach kleiner. Nur bei einem  $p_H$  von 4,4 ( $1/10$  Serum) bis

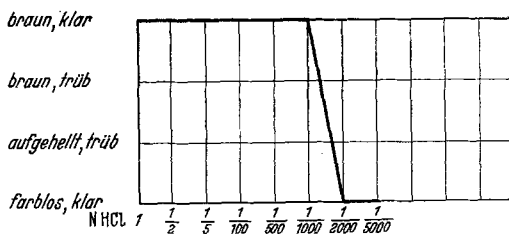


Abb. 10 a. 1 cm Serum  $1/5000$ , 1 cm Salzsäure von 1 N bis  $1/5000$  N, 2 cm Silbersol.

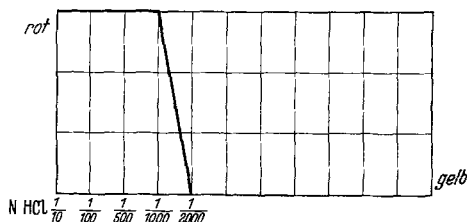


Abb. 10 b. Methylrot:  $p_H$  4,2—6,2.

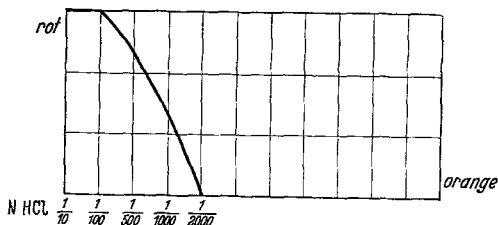


Abb. 10 c. Methylorange:  $p_H$  3,1—4,4.

4,2 ( $1/50$  Serum) findet Flockung statt; bei einem  $p_H$  unter 4,2 nicht mehr.

Bei dem umgekehrten Versuch mit konstantem Eiweiß und steigenden Salzsäuremengen findet man folgende Kurven (Abb. 10 a, b und c).

Aus diesen drei Kurven läßt sich wiederum ableiten, daß bei einem  $p_H$  4,2—4,4 die Fällung des Silbersoles stattfindet; bei niedrigerem  $p_H$  ist die Lösung stabil, wenn wenigstens noch eine gewisse Menge des Eiweißes vorhanden ist.

Wenn jedoch die Eiweißmenge sehr gering wird, tritt auch eine Fällung des Silbersoles auf bei einem  $p_H$  unter 4,2 (Abb. 9 a); dies läßt sich so erklären, daß die Eiweißteilchen in zu geringem Maße vorhanden sind, um die Silberteilechen zu schützen.

*Erklärung.*

Eine theoretische Erklärung der Prozesse, die bei den oben beschriebenen Versuchen stattfinden, ist ohne die Annahme zweier unbekannter schützender und fällender Polypeptide möglich. Was geschieht nämlich bei der Vornahme der Salzsäure-Kollargolreaktion?

In den Röhrchen werden hydrophile Sole von verschiedenen amphoteren Eiweißen, ein pufferndes Gemisch von Elektrolyten und eine gewisse Menge stark dissoziierter Salzsäure (hauptsächlich wirkend mittels seiner  $H^+$ -Ionen) zusammengefügt. Ein Teil der  $H^+$ -Ionen wird von dem basischen Puffergemisch neutralisiert — die Alkalireserve des zu untersuchenden Liquors wird demnach einen gewissen Einfluß auf den Ablauf der Reaktion haben. Die Eiweißfraktionen spielen jedoch die größte Rolle. Die Eiweißteilchen werden positiv geladen.

Zu dieser Lösung von hydrophilen positiven Eiweißteilchen werden die negativen hydrophoben Silberteilen hinzugefügt. Wenn ein *Übermaß* des Eiweißes vorhanden ist, ist das Totalgemisch schwach sauer ( $p_H$  4,2—4,4 — s. Abb. 9, Röhrchen 1 und 2); bei diesem  $p_H$  ist das amphotere Eiweiß in seinem isoelektrischen Punkt und zusammen mit den negativen Teilchen des hydrophoben Silbersoles flockt es aus, um danach zu sedimentieren. Wenn eine *geringere* Menge des Eiweißes vorhanden ist und eine *sehr geringe* Menge der Salzsäure ( $1/1000$  N-HCl und weniger), findet man genau dasselbe: relativ sind die hydrophilen Eiweißsole im Überschuß vorhanden, das Gemisch erreicht einen  $p_H$  von 4,4 bis 4,2, die Eiweißteilchen (im isoelektrischen Punkt) flocken aus zusammen mit den von ihnen umhüllten<sup>1</sup> Silberteilen (Abb. 10a, Röhrchen 7 und 8).

Bei der *normalen* Versuchsaufstellung werden jedoch die sehr geringen Salzsäurekonzentrationen nicht verwendet. Wir haben demnach praktisch nur mit der Tatsache zu rechnen, daß bei *großen* Eiweißmengen eine Flockung in den ersten Röhrchen auftreten kann, dadurch daß die Menge der verwendeten Salzsäure nicht imstande ist, den  $p_H$  *unter* 4,2 zu bringen — das Eiweiß kommt in seinen isoelektrischen Punkt und flockt aus, zusammen mit den von dem Eiweiß umhüllten Silberteilen.

In allen anderen Röhrchen ist die Salzsäure relativ in so großem Überschuß vorhanden, daß der  $p_H$  unter 4,2 liegt. Die Lösung ist stärker sauer und mehr positiv geladen. Die hydrophilen Eiweißsole umhüllen die hydrophoben negativen Silberteilen und halten das Ganze mittels ihrer überwiegend positiven Ladung in kolloidaler Lösung.

Trotzdem sieht man, daß normaliter von dem vierten Röhrchen ab in sämtlichen Röhrchen eine Ausflockung eintritt, obwohl der  $p_H$  in den

<sup>1</sup> Bekanntlich verhalten die Teilchen in einem Gemisch von einem hydrophoben, negativ geladenem Hydrosol mit einem hydrophilem Sol sich so, daß die hydrophoben Teilchen von den hydratierten hydrophilen Teilchen umhüllt — und geschützt — werden.

letzten fünf von ihnen unterhalb 4,2 ist. Diese Ausflockung muß demnach anders erklärt werden. Denn die Eiweißsole in den Röhrchen 6—12 sind gewiß deutlich positiv geladen. Die Eiweißmenge ist da jedoch nicht genügend groß, um die Silberteilechen zu umhüllen; das hinzugefügte negative Silbersol kann demnach nicht geschützt werden und wird von den  $H^+$ -Ionen der Salzsäure gefällt.

Daß bei geringer Menge der Eiweißsole tatsächlich etwas anderes geschieht als bei der Fällung im isoelektrischen Punkt der Eiweißsole bei hohem Eiweißgehalt, läßt sich aus der Beschaffenheit des Sedimentes ableiten. Nehmen wir als Beispiel Kurve 9. Das Sediment in den ersten 2 Röhrchen ist grobflockig (Silber + Eiweiß) und die Sedimentierung tritt nach kurzer Zeit ein. Im letzten Röhrchen findet die Sedimentierung viel langsamer statt und ist das Sediment sehr feinstäubig.

Aus den Versuchen mit den Eiweißfraktionen folgte, daß die verschiedenen Fraktionen nicht dasselbe schützende Vermögen besitzen; die Globuline schützen im allgemeinen stärker als die Albumine. Mittels dieser Verschiedenheit in dem schützenden Vermögen der Eiweißfraktionen können die pathologischen Kurven mit zwei Schutzzonen erklärt werden. Wir müssen dann annehmen, daß die erste Schutzzone gebildet wird mittels der Schutzwirkung einer Fraktion, die zweite Zone mittels der Schutzwirkung der zweiten Fraktion. Die Fällungszone zwischen beiden Schutzzonen liegt in dem Gebiet, in dem die Verdünnung der ersten Fraktion schon so groß ist, daß diese nicht mehr schützt, während der dort herrschende  $p_H$  für die zweite Fraktion noch innerhalb der kritischen Zone um den isoelektrischen Punkt liegt. Die zweite Schutzzone ist dann das Gebiet, wo die zweite Fraktion schützend auftritt. In der zweiten Fällungszone ist diese zweite Fraktion wiederum so stark verdünnt, daß sie keinen Schutz mehr geben kann an die im Übermaß vorhandenen Silberteilechen.

Diese letztere Theorie wird demonstriert von Kurve 4, Abb. 7. Hier findet man eine zweite Schutzzone in eine normale Liquorkurve hineingefügt durch Hinzufügung einer Globulinfraktion, die bei dem Standardversuch eine sehr weit rechts gelegene Schutzzone hervorrief.

#### *Schlußfolgerungen.*

Man kann die Salzsäure-Kollargolkurven ungekünstelt auffassen als ein Produkt 1. der Total-Eiweißmenge, 2. der Art und Eigenschaften der verschiedenen Eiweißfraktionen in ihren wechselnden Massenverhältnissen und schließlich 3. der wechselnden Alkalireserve des Liquors. Die resultierenden Kurven sind kolloidchemisch relativ einfach zu erklären.

Im Prinzip lassen sich sämtliche Kurvenformen aus den folgenden Kurven und den beigegebenen bildlichen Vorstellungen der kolloidchemischen Prozesse ableiten (Abb. 11).

Zone 1. Sediment von Eiweiß + Silber. Das negativ geladene Silberteilchen ist von neutralem Eiweiß in seinem isoelektrischen Punkt umgeben — sie flokken zusammen in einem grobflockigen Sediment aus.

Zone 2. Das negativ geladene Silberteilchen wird von dem es umhüllenden positiv geladenen Eiweiß geschützt; es tritt keine Flockung ein.

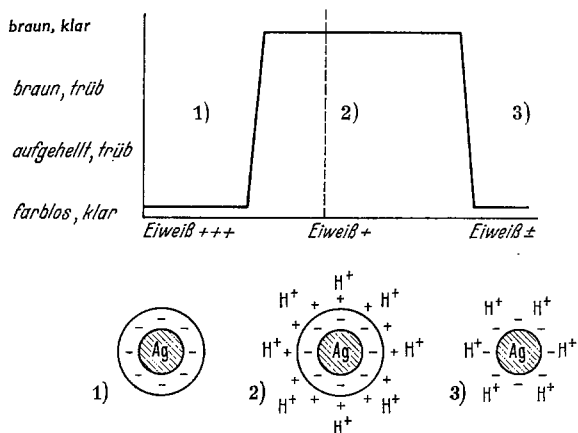


Abb. 11.

Zone 3. Flockung des ungeschützten negativen Ag—Ag(OH)-Sols mit den  $H^+$ -Ionen.

Bei Liquoren mit niedrigem und mittlerem Eiweißgehalt ist die erhaltene Kurve ein Analogon zu dem rechten Teil der Kurve 11, bei Liquoren mit sehr hohem Eiweißgehalt ein Analogon zum linken Teil der Kurve 11. Die Kurven mit einer zweiten Schutzzone sind die Resultanten der Wirkungen zweier Eiweißfraktionen mit verschiedenem Vermögen.

### Schlußbemerkungen zur Hufmann-Riebelingschen Theorie.

Die *Theorie* von *Hufmann-Riebeling* ist nach dem Vorhergehenden unseres Erachtens per exclusionem auszuschalten. Die wichtigsten Gegenargumente sind:

1. Lediglich mittels Anreicherung des Liquors mit verschiedenen Eiweißfraktionen und mittels Steigerung des Gesamteiweißes kann man die pathologischen Kurvenformen im Modellversuch nachahmen.

2. Mit einem hydrophilen Kohlehydratsol, wie dem Agarsol, sieht man genau wie mit anderen hydrophilen Sols das Auftreten einer Schutzzone, obwohl die Anwesenheit eines speziellen Schutzstoffes von Polypeptidcharakter hier wohl vollständig ausgeschlossen ist.

Schließlich sind eine ganze Reihe der Versuche, auf denen die *Hufmann-Riebelingsche* Theorie beruht, nicht einwandfrei. Die Dialyse vom Serum und Liquor gegen allerlei chemisch-elektrolytisch wirksame Stoffe

oder die Mischung mit diesen kann grobe Veränderungen in den Eiweißsolen verursachen. Es wurde zwar angenommen, jedoch nicht kontrolliert, daß bei ihren Dialyseversuchen kein Eiweiß durch die verwendete Membran (Pergamentpapier) hindurchdialysiert — diese Annahme ist jedoch unrichtig. Bei Dialyse gegen elektrolytisch wirksame Stoffe können auch die Teilchen eines Eiweißhydrosols die Pergamentmembran passieren. Demnach ist es sehr gut möglich, daß der dialysable unbekannte Schutzstoff nichts anderes ist als ein Teil des Eiweißes, das die Membran passiert hat. Schließlich wurden bei den Versuchen die äußerst wichtigen  $p_H$ -Verschiebungen nicht ins Auge gefaßt, obwohl bestimmte Versuche *Riebelings* und *Huffmanns* sicher einhergehen mit größten  $p_H$ -Veränderungen (Dialyse gegen  $\frac{1}{500}$  N-Salzsäure).

Diese Bemerkungen zu den Versuchen *Riebelings* und *Huffmanns*, zusammen mit den mehr theoretischen Überlegungen und unseren Gegenversuchen, lassen unseres Erachtens ihre Theorie unannehmbar erscheinen.

#### Zusammenfassung.

Das Prinzip der Salzsäure-Kollargolreaktion nach *Riebeling-Huffmann* wird beschrieben. Versuche über den Einfluß der totalen Eiweißmenge, der verschiedenen Eiweißfraktionen und des  $p_H$  des Liquors auf die Kurvenform werden besprochen. Mit Modellversuchen können die pathologischen Kurven nachgeahmt werden. Es wird versucht, eine Erklärung der kolloid-chemischen Prozesse, die bei der Reaktion stattfinden, aufzustellen. Die Annahme eines unbekannten Schutzstoffes und eines unbekannten fällenden Stoffes zur Erklärung der Schutzwirkung der normalen und pathologischen Liquoren (nach *Riebeling* und *Huffmann*) erweist sich als theoretisch überflüssig, und bestimmte Versuche, die zugunsten dieser Annahme zu sprechen scheinen, erweisen sich als nicht einwandfrei.

---