

Aus der Universitäts-Nervenlinik München (Direktor: Prof. BUMKE).

Studien zur pathologischen Physiologie des Liquor cerebrospinalis.

IV. Mitteilung.

Die Normomastixreaktion und die modifizierte Mastixreaktion (m. M.R.), ihre kolloidchemischen Grundlagen und ihre pathophysiologische Bedeutung für die Klinik.

Von

K. F. SCHEID † und LOTTE SCHEID*.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. August 1944.)

A. Theoretische Vorbemerkungen.

Seit Einführung der sogenannten Kolloidreaktionen in die Liquordiagnostik durch KARL LANGE und EMANUEL vor etwa drei Jahrzehnten ist die Frage nach dem Mechanismus dieser Reaktionen wiederholt bearbeitet worden (LANGE, GOEBEL, KAFKA, SAMSON, SCHMITT, RIEBELING, DUENSING und zahlreiche andere). Eine vollständige Erklärung des den Kolloidreaktionen zu Grunde liegenden kolloidchemischen Vorgangs stand aber trotz der angewandten Mühe bisher noch aus, wenn auch durch Beobachtung wichtiger Einzelheiten wertvolle Vorarbeit geleistet werden konnte. Naturgemäß mußte bei dieser Sachlage auch die Frage nach der pathophysiologischen Bedeutung der Kolloidreaktionen offen bleiben. Die Klinik beschränkte sich bekanntlich auf eine rein empirische diagnostische Zuordnung bestimmter Kurvenbilder zu bestimmten Erkrankungen des Nervensystems, was sich zwar in der „Praxis“ bewährte, aber gerade wichtige Probleme bei entzündlichen pathologischen Vorgängen am Zentralorgan unbeantwortet ließ.

Der Grund für diese Lücken in unserem Wissen lag an den mangelhaften Kenntnissen, die wir über die elektrochemischen Eigenschaften der in den Körpersäften vorkommenden Eiweißkörper besaßen. Durch die Entwicklung eines Verfahrens, welches diese elektrochemischen Eigenschaften der Proteine in verfeinerter Form zu untersuchen gestattet, wurde hier grundsätzlicher Wandel geschaffen. Die kataphoretische Analyse der Liquoreiweißkörper mit Hilfe der Methode von TISELIUS brachte die Erkenntnis, daß bei entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems Eiweißkörper in der Cerebrospinalflüssigkeit erscheinen, welche die elek-

* Unter Mitwirkung von E. STRAUSS und H. DAUSER.

trochemischen Kriterien der Serumproteine zeigen. Auch bei Tumoren des Gehirns und Rückenmarks fanden wir bei der überwiegenden Mehrzahl der Fälle offenbar aus den Capillaren transsudiertes Bluteiweiß.

Mit diesen Ergebnissen erhob sich die Frage nach dem Wesen der Kolloidreaktionen von neuem, zumal sich Unstimmigkeiten mit Schlußfolgerungen ergaben, die frühere Untersucher aus Experimenten mit den Kolloidreaktionen gezogen hatten. Zudem eröffnet sich von der Elektrochemie der Eiweißkörper ein Weg zu einem besseren Verständnis der Kolloidreaktionen. Wir folgen hierbei im wesentlichen Gedankengängen, die in der Kolloidchemie nicht neu sind und die auch schon vor über einem Jahrzehnt zur Aufklärung der Wa.R. durch EAGLE herangezogen wurden, die aber bisher in der Liquordiagnostik nur wenig Beachtung fanden. Im folgenden beschränken wir uns ausschließlich auf die Mastixreaktion. Bei den anderen Kolloidreaktionen mögen ähnliche Verhältnisse vorliegen. Sie sollen in der nächsten Mitteilung behandelt werden.

Daß der Ausfall der Mastixreaktion in erster Linie von den kolloidchemischen Eigenschaften der im Liquor vorhandenen makromolekularen Stoffen abhängt, ist seit langem sichergestellt. Die niedermolekularen Substanzen spielen nur die sekundäre Rolle des Milieus, wovon man sich durch Versuche mit nach unserem Verfahren¹ dialysierten Flüssigkeiten leicht überzeugen kann und wie später deutlich werden wird. Die makromolekularen Körper werden praktisch von den Eiweißkörpern gestellt. Die Lipide und das Cholesterin sind mit diesen Proteinen zu Symplexen vereinigt und zwar das Cholesterin mit dem γ -Globulin, die Lipide mit dem β -Globulin. Sie sind in wäßrigen Flüssigkeiten nicht oder nur sehr schlecht löslich, da sie nur sehr wenige hydrophile Gruppen besitzen und werden von den Eiweißkörpern in Lösung gehalten. Die Oberflächeneigenschaften, insbesondere das elektrochemische Verhalten des symplexen Makromoleküls wird wahrscheinlich weitgehend durch seine Eiweißkomponente bestimmt. Da nun, wie wir sehen werden, im wesentlichen die elektrochemischen Eigenschaften für den Ausfall der Mastixreaktion verantwortlich zu machen sind, haben die Lipide und das Cholesterin als solche nur einen sekundären Einfluß auf das kolloidchemische Verhalten des Liquors. Für die Erklärung der Mastixreaktion sind nun folgende Tatsachen und Überlegungen von Bedeutung:

1. Werden kleine Partikel (Quarzsplitter, Öltropfen, Teilchen eines Cholesterinsols usw.) in Eiweißlösungen gebracht, so erhalten sie meist die elektrochemischen Eigenschaften der in der Lösung vorhandenen Proteine. ABRAMSON konnte z. B. zeigen, daß kleine Quarzsplitter im elektrischen Feld die kataphoretische Wanderungsgeschwindigkeit der Eiweißart zeigen, in deren Lösung sie enthalten sind. Der genannte Autor

¹ Vgl. die II. Mitteilung dieser Untersuchungsserie.

hat auf Grund dieser Tatsache eine Methode ausgearbeitet, die es gestattet, durch mikroskopische Beobachtungen der Wanderung dieser Quarzteilchen die Wanderungsgeschwindigkeit von Eiweißkörpern zu bestimmen. In der Kolloidchemie werden diese Beobachtungen durch Adsorption einer dünnen Proteinschicht auf der Oberfläche der kleinen Quarzpartikel erklärt. Die Oberfläche des Teilchens hat also mehr oder weniger, je nach Größe und Dicke des Überzugs, den Charakter eines Eiweißfilms erhalten, der unter entsprechenden Bedingungen ganz ähnliche Eigenschaften zeigt, wie das Eiweißmolekül selbst¹. Dies gilt besonders für sein elektrochemisches Verhalten, das von der Dissoziation der ionisierten Gruppen des Proteins abhängig ist². Für die Cholesterin-Antigenteilchen der Wassermannextrakte sind von EAGLE ganz ähnliche Verhältnisse nachgewiesen worden. Bei sehr kleinen Kolloidteilchen wird sich kein eigentlicher Proteinfilm um die Partikel herum ausbilden können. Es entsteht unter diesen Umständen vielmehr eine Kolloid-Eiweißverbindung, die wieder je nach der Zahl der in den Komplex einbezogenen Eiweißteilchen mehr oder weniger die elektrochemischen Eigenschaften des Proteins annimmt.

Aus diesen Beobachtungen ist die naheliegende Schlußfolgerung zu ziehen, daß sich die etwa $0,1\text{--}1\mu$ großen Partikel des Mastixsols ebenfalls mit einem Eiweißfilm überziehen bzw. mit dem Eiweißteilchen einen Komplex bilden, wenn sie in eine Proteidlösung gebracht werden. Die Mastixteilchen erhalten damit mehr oder weniger die elektrochemischen Eigenschaften der Eiweißkörper.

2. Die *Stabilität von kolloidalen Lösungen* hängt sehr wesentlich von der Größe der elektrischen Ladung der einzelnen Partikel ab. Bekanntlich kommt es infolge der Wärmebewegung der Moleküle in Lösungen zu dauernden Zusammenstößen der einzelnen Kolloidpartikel eines Sols³. Unter dem Einfluß der Oberflächenspannung, die eine Tendenz zur Verkleinerung der Oberfläche des kolloidal gelösten Stoffes ausübt, müssen diese Zusammenstöße zu einem Zusammentreten eines oder mehrerer Teilchen, d. h. zu einer Ausflockung des Kolloids führen, wenn nicht abstoßende Kräfte zwischen den Partikeln vorhanden sind. Diese abstoßenden Kräfte sind in erster Linie elektrischer Natur und durch die gleichsinnige Ladung der Teilchen des Sols bedingt. Ein Sol bleibt also

¹ Voraussetzung hierfür ist, daß bei der Adsorption keine wesentliche Denaturierung des Eiweißes stattfindet, wie dies z. B. beim Eialbumin der Fall ist (ABRAMSON).

² Siehe H. H. WEBER, Eiweißkörper als Riesenionen, Schriften der Königsberger Gelehrten Gesellschaft, 18, 45 (1942).

³ Etwas eingehender, aber ebenfalls elementar sind diese Verhältnisse dargestellt bei K. FAJANS und J. WÜST, Physikalisch-chemisches Praktikum, S. 49. Leipzig 1935.

deswegen stabil, weil seine Partikel eine elektrische Ladung und damit auch ein bestimmtes elektrisches Potential, das sog. ζ -Potential besitzen. Durch Verringerung dieses ζ -Potentials wird das Kolloid zur Ausflockung gebracht. Dabei brauchen die Teilchen nicht vollkommen entladen zu werden, es genügt, das ζ -Potential unter einen bestimmten Wert, den *kritischen*, herunterzudrücken. Die Flockung von Kolloiden durch Elektrolytzusatz, aber auch viele Reaktionen der Serologie und Bakteriologie¹ beruhen auf diesem Vorgang.

3. Von der elektrischen Ladung eines Kolloidteilchens muß nun aber auch, wie sich jedenfalls qualitativ ohne weiteres ergibt, seine Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld abhängen. Es ist heute möglich, aus bestimmten Daten das ζ -Potential eines Kolloidteilchens und aus diesem seine Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld zu berechnen. Die quantitative Ausgestaltung der Theorie hat aber noch mit gewissen Schwierigkeiten zu kämpfen; auf die hier im einzelnen nicht eingegangen werden kann. Daß aber heute schon eine gute Übereinstimmung zwischen der theoretisch errechneten Wanderungsgeschwindigkeit und der Beobachtung besteht, sei an Hand eines Beispiels von TISELIUS und SVENSSON gezeigt:

Nach der Theorie von DEBYE-HÜCKEL läßt sich das ζ -Potential eines Kolloidteilchens aus seiner Ladung $n \cdot e$ (n Zahl der Elementarladungen, e Ladung des Elektrons = $4,774 \cdot 10^{-10}$ ESE.), der Dielektrizitätskonstante der Lösung D , dem Teilchenradius r und dem Wert der sog. effektiven Dicke der elektrischen Doppelschicht $1/\kappa$ gemäß der Formel berechnen:

$$\zeta = \frac{n \cdot e}{D \cdot r (1 + \kappa r)} \quad (1)$$

Die Wanderungsgeschwindigkeit ist mit dem ζ -Potential durch die Formel verknüpft:

$$u = \frac{D \cdot \zeta}{6 \pi \cdot \eta} \quad (2)$$

wobei D wieder die Dielektrizitätskonstante und η den Reibungskoeffizienten der Lösung bedeutet. Setzt man den Wert für ζ in die Formel (2) ein, so erhält man:

$$u = \frac{n \cdot e}{6 \pi \eta r (1 + \kappa r)} \quad (3)$$

oder, wenn noch nach HENRY ein Korrekturfaktor, der eine Funktion von κ und r darstellt, eingeführt wird

$$u = \frac{n \cdot e \cdot f(\kappa, r)}{6 \pi \eta r (1 + \kappa r)} \quad (4)$$

Der Wert von κ wird aus der DEBYE-HÜCKELschen Theorie gewonnen und beträgt $\kappa = 3,279 \cdot 10^7 \cdot \sqrt{\mu}$, wobei μ die Ionenstärke ist. $n \times e$ kann aus Membranpotentialmessungen erhalten werden. Der Wert ist wegen der Dissoziation der $-\text{COOH}$ und $-\text{NH}_2$ Gruppen der Eiweißkörper pH -abhängig. u ist also unter anderem ebenfalls pH -abhängig und außerdem der Quadratwurzel der Ionenstärke der Lösung

¹ Vgl. H. SCHMIDT, Fortschritte der Serologie. Dresden und Leipzig 1933.

umgekehrt proportional. Mit Hilfe dieser Formel (4) haben TISELIUS und SVENSSON die Wanderungsgeschwindigkeit des Eialbumins berechnet und eine gute Übereinstimmung mit ihren direkten kataphoretischen Messungen gefunden.

Aus der Formel (. . . 2) ergibt sich, daß das ζ -Potential, das wie erwähnt für die Stabilität einer kolloidalen Lösung in erster Linie verantwortlich zu machen ist, der Wanderungsgeschwindigkeit der Kolloidteilchen direkt proportional ist. Diese Feststellung genügt für unsere vorwiegend qualitative Betrachtung.

Die Wanderungsgeschwindigkeit der Serumeiweißkörper hängt wiederum von der Elektrolytkonzentration, einschließlich der H^+ -Ionen

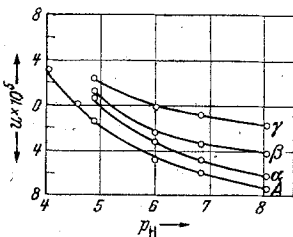


Abb. 1. Die Abhängigkeit der Wanderungsgeschwindigkeit der Serumeiweißkörper von der Wasserstoffionenkonzentration nach Messungen von TISELIUS. Pferdeserumeiweißkörper. Ionenstärke 0,1.

ab. Abb. 1 zeigt diese Abhängigkeit am Beispiel der Pferdeserumeiweißkörper, die den menschlichen weitgehend ähnlich sind, und zwar ist die Wanderungsgeschwindigkeit gegen das p_H der Lösung aufgetragen, während die Konzentration der Elektrolyte konstant gehalten wurde. Die Figur zeigt, daß die Werte von u bei steigender Wasserstoffionenkonzentration, d. h. bei fallendem p_H für alle vier Eiweißarten abnehmen. Am isoelektrischen Punkt hat die Wanderungsgeschwindigkeit jeweils den Betrag Null, in noch saureren Lösungen kehrt sich die Wanderungsrichtung um. Der isoelektrische Punkt liegt für das γ -Globulin bei einem p_H von 6,0, für das β -Globulin bei 5,12, das α -Globulin bei 5,06 und für das Albumin bei 4,8. Das γ -Globulin wandert in neutraler oder etwas alkalischer Lösung (p_H 7—8) am langsamsten, das Albumin am schnellsten. Die Unterschiede der u -Werte sind hier beträchtlich und betragen das 6—7fache. Das gleiche gilt nach Formel (. . . 2) auch für das ζ -Potential. Ein mit einem γ -Globulinfilm überzogenes Mastixteilchen bzw. ein γ -Globulin-Mastix-Komplex wird also bei p_H 7—8 ein wesentlich kleineres ζ -Potential besitzen, als ein solches, auf dessen Oberfläche ein Albuminhäutchen adsorbiert ist oder das sich mit Albumin zu einem Komplex verbunden hat. Unter bestimmten Bedingungen kann das ζ -Potential einer γ -Globulin-Mastixpartikel unter den kritischen Wert sinken, während bei den gleichen Bedingungen ein Albumin-Mastixpartikel infolge des viel höheren ζ -Potentials dieses Komplexes noch völlig stabil ist. Das γ -Globulin hat dann also eine wesentlich größere Fällkraft auf das Mastixsol als das Albumin. Das β -Globulin wird sich in der Mitte zwischen beiden Extremen halten. Es kommt auf die Versuchsbedingungen an, ob die β -Globulin-Mastixpartikel stabil ist oder sich entlädt. Wasserstoffionenkonzentration und Ionenstärke der

elektische Punkt liegt für das γ -Globulin bei einem p_H von 6,0, für das β -Globulin bei 5,12, das α -Globulin bei 5,06 und für das Albumin bei 4,8. Das γ -Globulin wandert in neutraler oder etwas alkalischer Lösung (p_H 7—8) am langsamsten, das Albumin am schnellsten. Die Unterschiede der u -Werte sind hier beträchtlich und betragen das 6—7fache. Das gleiche gilt nach Formel (. . . 2) auch für das ζ -Potential. Ein mit einem γ -Globulinfilm überzogenes Mastixteilchen bzw. ein γ -Globulin-Mastix-Komplex wird also bei p_H 7—8 ein wesentlich kleineres ζ -Potential besitzen, als ein solches, auf dessen Oberfläche ein Albuminhäutchen adsorbiert ist oder das sich mit Albumin zu einem Komplex verbunden hat. Unter bestimmten Bedingungen kann das ζ -Potential einer γ -Globulin-Mastixpartikel unter den kritischen Wert sinken, während bei den gleichen Bedingungen ein Albumin-Mastixpartikel infolge des viel höheren ζ -Potentials dieses Komplexes noch völlig stabil ist. Das γ -Globulin hat dann also eine wesentlich größere Fällkraft auf das Mastixsol als das Albumin. Das β -Globulin wird sich in der Mitte zwischen beiden Extremen halten. Es kommt auf die Versuchsbedingungen an, ob die β -Globulin-Mastixpartikel stabil ist oder sich entlädt. Wasserstoffionenkonzentration und Ionenstärke der

Lösung sind neben der Konzentration des Eiweißes und der Mastixlösung die Parameter, durch deren Variationen sich die Versuchsbedingungen verändern lassen.

Wenn Mischungen von zwei oder drei Serumeiweißkörpern einer Suspension zugesetzt werden, so besteht der an der Oberfläche der Teilchen adsorbierte Proteinfilm ebenfalls aus den zwei oder drei Komponenten. Nach ABRAMSON und MOYER nehmen Quarzteilen, in Serumlösung gebracht, eine Wanderungsgeschwindigkeit an, die in der Mitte zwischen der des Albumins und der Globuline gelegen ist. Liegt eine Mischung von γ -Globulin mit Albumin vor, so wird das γ -Globulin-Albumin-Mastixteilchen wegen der Anwesenheit von Albumin im adsorbierten Eiweißfilm bzw. im Komplex unter sonst gleichen Bedingungen ein höheres ζ -Potential zeigen als dann, wenn die Mastixpartikel nur von γ -Globulin überzogen wird oder mit ihr verbunden ist. Mit anderen Worten: ein γ -Globulin-Mastixsol ist bei Anwesenheit von Albumin stabiler, die Fällkraft des γ -Globulins auf die Mastixteilchen muß unter diesen Umständen vermindert werden. Die Stärke dieser „Schutzwirkung“ hängt von den quantitativen Verhältnissen ab, sehr hohe Albuminkonzentrationen sollten bei bestimmten Versuchsbedingungen die Flockung des γ -Globulins überhaupt verhindern können.

4. Die beschriebenen Verhältnisse werden nun noch dadurch etwas modifiziert, daß der Mastix-Eiweißkomplex in seinem elektrochemischen Verhalten von der Zahl der in ihn einbezogenen Proteinteilchen bestimmt wird. Mit anderen Worten: Je mehr Eiweiß sich mit dem Mastix verbindet, um so mehr wird der Komplex den Charakter des reinen Proteins annehmen. Ist die adsorbierte bzw. eingebaute Eiweißmenge nur gering, so werden noch die Eigenschaften des Mastix selbst interferieren. Die Eiweiß-Mastixpartikel verhält sich dann ähnlich wie ein *denaturiertes* Protein¹. Es ist also zu erwarten, daß unter bestimmten Bedingungen der Wert des ζ -Potentials von der *Eiweißkonzentration* abhängig ist. Dieser *Konzentrationseffekt*, der auf die schon lange bekannte Erscheinung der *Sensibilisierung* zurückgeführt werden kann, wird sich für die Erkennung und Charakterisierung der einzelnen Eiweißkörper mit Hilfe der Kolloidreaktionen als wichtig erweisen.

Nach neueren Arbeiten von WUNDERLI und WÜHRMANN und COHN können in normalen und pathologisch veränderten Seren auf elektrophoretischem Wege 2 α -, 3 β - und 2 γ -Globuline nachgewiesen werden. Das Auftreten eines 2. γ -Globulins ist bisher nur selten in krankhaft veränderten Seren beobachtet worden. Seine Wanderungsgeschwindigkeit und somit sein ζ -Potential unterscheiden sich kaum vom normalen γ -Globulin. Die verschiedenen β -Globuline sind in wechselnder Menge

¹ Genauere Einzelheiten hierüber finden sich in der nächsten Mitteilung.

bei den verschiedensten akuten Infektionskrankheiten und bei manchen Myelomen u. a. m. gefunden worden, ebenso α_1 und α_2 -Globulin. Durch ihre Wanderungsgeschwindigkeiten, die jeweils nahe beieinanderliegen, lassen sie sich wohl definieren. Die Masse der einzelnen β -Globuline zeigt allerdings erhebliche Unterschiede, was aber den Ausfall der Mastixreaktion nicht in dem Maße beeinflußt wie der Wert des von dem Gewicht des Teilchens unabhängigen ζ -Potentials.

Adsorption von Protein an Kolloidteilchen bzw. Bildung eines Kolloid-Protein-Komplexes, Proportionalität des ζ -Potentials eines Mastix-Eiweißkomplexes zur Wanderungsgeschwindigkeit des Eiweißkörpers, Konzentrationseffekt und Abhängigkeit der Stabilität des Mastix-Eiweißkomplexes vom ζ -Potential, das sind die zu erwartenden kolloidchemischen Erscheinungen bei der Mastixreaktion. Es handelt sich bei diesen Gedankengängen naturgemäß um eine rein größenordnungsmäßige und qualitative Betrachtung, die auch von chemischen Einzelheiten absieht, die aber für unsere Zwecke völlig ausreicht. Eine weitere theoretische Begründung insbesondere der Bindung zwischen Eiweiß und Kolloid (Mastix) findet sich in der jüngst erschienenen Arbeit von PAULI und DESSAUER.

B. Experimenteller Teil.

a) Methodik.

1. Die übliche Mastixreaktion wurde mit Normosalverdünnungen durchgeführt. Herstellung des Sols: zu 0,4 ccm einer 10%igen alkoholischen Mastixlösung + 4,5 ccm Alkohol (96%ig) wurden rasch 20,0 ccm *doppelt* destilliertes Wasser zugesetzt. Die Sole waren sehr gut reproduzierbar.

2. Zur *m. M. R.* wurde das gleiche Sol verwandt. Jedoch wurde der Liquor oder die Eiweißlösung vorher gegen einen Phosphatpuffer von einer bestimmten Ionenstärke¹ und einem bestimmten p_H dialysiert. Für die meisten Versuche wurde eine Ionenstärke von 0,165 und ein p_H von 7,0–7,1 gewählt. Die Verdünnungen entlang der Kurve wurden ebenfalls mit dieser Pufferlösung angesetzt.

Die Dialyse wurde mit dem in der zweiten Mitteilung beschriebenen Gerät, das von der Membranfiltergesellschaft, Sartorius-Werke (AG.), Göttingen hergestellt wird, durchgeführt. Kollodiumhülsen sind, wie dort ausgeführt wurde, unzuverlässig.

Der Eiweißgehalt konnte ohne Verbrauch von Substanz mit Hilfe des in der ersten Mitteilung beschriebenen Verfahrens, das auch von kolloidchemischer Seite mitunter benutzt wird, bestimmt werden: Der Brechungsindexunterschied zwischen Dialysat und Außenflüssigkeit wurde refraktometrisch oder interferometrisch gemessen und die Eiweißkonzentration nach der Formel berechnet: $C_{\text{Eiweiß}} = n_{\text{innen}} - n_{\text{außen}} \cdot \frac{1}{\alpha}$, wobei α das spezifische Inkrement bedeutet, das den Wert 0,00202 besitzt.

¹ Unter Ionenstärke versteht man in der Elektrolyttheorie den Ausdruck $\mu = \frac{1}{2} \sum c_i \cdot i^2$, wobei c_i die Konzentration der Ionen der Lösung und i ihre Wertigkeit bedeutet; z. B. ein Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,165 und einem p_H von 7,0 enthält 53,3 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 39,2$ g KH_2PO_4 auf 8000 ccm.

4. Die *pH-Messung* erfolgte mit Hilfe des Apparates von *Lautenschläger* (München) an der Chinhydronelektrode.

5. Zur *Darstellung der elektrochemisch einheitlichen Eiweißkörper* benutzten wir die Apparatur von *TISELIUS*, die in der ersten und dritten Mitteilung eingehend beschrieben worden ist. Seren wurden nach Dialyse 1:3 verdünnt (Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,1 und *pH* 8,2), dann 8 Stunden bei einer Feldstärke von 4—5 Volt · cm⁻² elektrophoretisch getrennt. Dabei mußte die Kompensations-einrichtung so gestellt werden, daß das β -Globulin die scheinbare Wanderungsgeschwindigkeit Null erhielt. Im Kathodenschenkel wurde reines γ -Globulin und im Anodenschenkel reines Albumin abgezogen, die Lösungen sofort bei —15° eingefroren. Die Mengen von etwa fünf Versuchen wurden vereinigt und auf *das pH* umdialysiert, bei dem die Kolloidreaktion ausgeführt werden sollte.

Die auf diese Weise gewonnene Menge von elektrochemisch einheitlichen Globulinen war sehr gering. Deswegen wurden diese Eiweißkörper durch Salzfällung vorher angereichert und dann erst elektrochemisch dargestellt. Da die Globuline besonders leicht denaturieren, mußte im einzelnen folgendermaßen verfahren werden: Das frische Serum wird etwa 1:4 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt. In diese Lösung wird bei 0° unter ständigem Rühren soviel festes feingepulvertes Ammonsulfat eingetragen, daß eine 35%ige Lösung entsteht (Halbsättigung). Nach 2stündigem Stehen bei 0° wird eine halbe Stunde bei 3000—4000 Touren zentrifugiert, die gesammelten Niederschläge mit 35%iger kalter (!) Ammonsulfatlösung aufgeschwemmt und noch einmal zentrifugiert. Das gefällte Globulin wird dann in einer möglichst geringen Menge kalter physiologischer NaCl-Lösung aufgenommen und sofort gegen die gleiche Lösung bei 0° in unserer Apparatur dialysiert¹. Die Globulinkonzentration darf dabei 2% nicht wesentlich überschreiten, da konzentriertere Lösungen sehr leicht denaturieren. *Wesentlich ist rasches Arbeiten bei niederen Temperaturen* und schnelle Entfernung des Ammonsulfats durch die Dialyse. Ist die zweckmäßig mehrmals gewechselte Außenflüssigkeit, gegen die dialysiert wird, sulfatfrei geworden, was im allgemeinen nach 48 Stunden der Fall ist, so wird weitere 24 Stunden gegen Puffer dialysiert und dann die kataphoretische Reinigung und Darstellung vorgenommen. Bei der ersten Wanderung wird im Kathodenschenkel das *reine γ -Globulin* (1) und eine weitere Portion γ - plus β -Globulin (2) abgezogen. Im Anodenschenkel wird eine Probe Albumin plus α -Globulin (3) und eine zweite Albumin plus α -Globulin plus β -Globulin (4) entnommen. Jetzt wird nach dem in der III. Mitteilung ausführlich beschriebenen Überschichtungsverfahren in den Anodenschenkel Lösung 2, in den Kathodenschenkel Lösung 4 gegeben und ein weiterer Lauf gemacht. Nun kann in beiden Schenkeln *reines β -Globulin* erhalten werden. In 2 Tagen ließ sich auf diese Weise 5,0 ccm einer 120 mg%igen Lösung von reinem β -Globulin darstellen.

6. Um den Ausfall der Kolloidkurve mit der auf kataphoretischem Wege gewonnenen quantitativen Zusammensetzung der Liquoreiweißkörper vergleichen zu können, mußten die *Gesamtproteine der Cerebrospinalflüssigkeit* ebenfalls *angereichert* werden, weil eine sichere quantitative Bestimmung der einzelnen Komponenten unterhalb einer Gesamtkonzentration von 80 mg-% nicht mehr exakt möglich ist. In der III. Mitteilung ist zu diesem Zwecke gelegentlich das Verfahren der Ultrafiltration benutzt worden. Dabei gehen aber sicher Globuline offenbar durch Adsorption an die Membran verloren (*DUENSING*). Deshalb wurde auch hier die Anreicherung mit Ammonsulfat vorgezogen: 25—50 ccm Liquor werden bei 20° unter

¹ Die so angereicherten Globuline enthalten fast immer noch Albumin, wie sich schon aus Versuchen von *TISELIUS* ergeben hat und worauf wir in den früheren Mitteilungen wiederholt hingewiesen haben.

ständigem Rühren mit soviel festem feinstgepulvertem Ammonsulfat versetzt, daß eine 70%ige, also gesättigte Ammonsulfatlösung entsteht. Nach zweistündigem Stehen bei 20° (inzwischen öfters umrühren!) wird die trübe Flüssigkeit im gekühlten präparativen Rotor der luftgetriebenen Ultrazentrifuge 5–10 Minuten bei 35000 Umdrehungen zentrifugiert. Der Niederschlag wird dann in 5 ccm NaCl-Lösung quantitativ aufgenommen und bei 0° sofort wie oben dialysiert. Statt der eleganten Methode der Ultrazentrifugierung, die sicher ohne Adsorptionsverluste arbeitet, kann die Fällung auch abfiltriert werden. (Doppeltes Filter SCHLEICHER-SCHÜLL, Blauband 589 bei 50 mm Hg Druck). Mit der angereicherten und entsprechend dialysierten Lösung wird dann in der üblichen Weise die kataphoretische Trennung mit Hilfe des in der III. Mitteilung beschriebenen Überschichtungsverfahrens ausgeführt. Nach refraktometrischer Gesamteiweißbestimmung und ent-

sprechender Umrechnung, die sich aus der Anreicherung ergibt, kann der Gehalt des Liquors an den einzelnen Eiweißkörpern bestimmt werden.

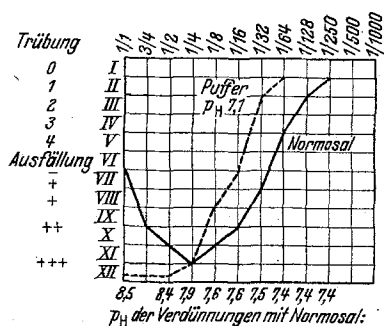


Abb. 2. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf den Ausfall der Mastixkurve eines Liquors. Progressive Paralyse. Die ausgezogene Linie stellt die übliche Form der Mastixreaktion mit Normosalverdünnung des Liquors dar. Das pH in den einzelnen Röhrchen ist jeweils unter dem Schema angeschrieben. Die gestrichelte Kurve wurde erhalten durch Dialyse des Liquors gegen eine Phosphatpufferlösung einer Ionenstärke von 0,165 und einem pH von 7,1. Die einzelnen Verdünnungen wurden mit dem gleichen Puffer hergestellt. In allen Röhrchen herrscht also bei diesem Vorgehen die gleiche Wasserstoffionenkonzentration.

b) Die einzelnen Versuche.

Es kann naturgemäß nur eine Auswahl aus unsern ausgedehnten Versuchsreihen gebracht werden¹.

1. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration: Die Wanderungsgeschwindigkeit der Eiweißpartikel im elektrischen Feld und damit auch deren ζ -Potential hängt in der oben dargestellten Weise unter anderem von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung ab. Das gleiche gilt für einen Protein-Mastix-Komplex. Je weiter wir daher das p_H der Lösung vom isoelektrischen Punkt entfernen halten, um so größer wird die Wanderungsgeschwindigkeit (Abb. 1), damit das dieser proportionale ζ -Potential

und daher die Stabilität des Eiweißmastixsols sein. Mit anderen Worten: Unter sonst gleichen Bedingungen ist auch die Fällkraft eines Proteins auf das Mastixsol p_H -abhängig. Hieraus ergibt sich die Forderung, die Wasserstoffionenkonzentration entlang der Mastixkurve, das heißt also in den einzelnen Röhrchen der Liquorverdünnungen konstant zu halten. Bei der Normomastixreaktion ist dies nicht der Fall, wie schon früheren Autoren aufgefallen ist. Messungen ergaben die in Abb. 2 dargestellten Verhältnisse (Versuch III/19). Es zeigt sich, daß die Lösung in den ersten Röhrchen wesentlich alkalischer ist, als in den

¹ Interessenten stehen unsere Protokolle zur Verfügung.

letzten. Die Differenz beträgt bis zu $1\frac{1}{2}$ Zehnerpotenzen der Wasserstoffionenkonzentration. Die Fällkraft des Liquorproteins ist in den ersten Röhrchen beträchtlich herabgesetzt. Es kommt zu einem absteigenden Schenkel der Kurve, der einen reinen p_H -Effekt darstellt. Um diesen Effekt auszuschließen, muß also die Mastixkurve so ausgeführt werden, daß in allen Röhrchen, d. h. bei allen Liquorverdünnungen die gleiche Wasserstoffionenkonzentration herrscht. Als Standard-Wasserstoffionenkonzentration wählten wir ein p_H von etwa $7,05 \pm 0,05$, da sich so bei den in Frage stehenden Eiweißkonzentrationen erfahrungsgemäß die übersichtlichsten Verhältnisse ergaben, wie weiter unten ausgeführt wird.

Um die Forderung der p_H -Konstanz zu verwirklichen, muß der Liquor gegen einen Phosphatpuffer von etwa p_H 7 dialysiert und die Verdünnungsreihe mit dem gleichen Puffer angesetzt werden. Wir nennen diese Reaktion die modifizierte Mastix-Reaktion (m. M. R.) und verwenden sie bei allen folgenden Versuchen.

2. Der Einfluß der Ionenstärke:

Etwas ähnliches gilt auch für die Ionenstärke, die ein Maß für den Elektrolytgehalt der Lösung darstellt. Zwar wurde seit Einführung der Normomastixreaktion die Verdünnung des Liquors mit einer Normosallösung vorgenommen, deren Ionenkonzentration der des Liquors „ähnlich“ sein soll. Bei unserem eben beschriebenen Verfahren ist aber die Ionenstärke bei allen Liquorverdünnungen mit Sicherheit die gleiche. Den bei der Dialyse auftretenden Donnan-Effekt (Elektrolytverschiebung zwischen Dialysiergut und Ausenflüssigkeit) können wir bei den in Frage kommenden verhältnismäßig niederen Eiweißkonzentrationen vernachlässigen. Als Standard-Ionenstärke wählten wir den Wert 0,165, weil sich hierbei wiederum die übersichtlichsten Verhältnisse ergaben. Alle folgenden Versuche sind also mit dieser Elektrolytkonzentration ausgeführt.

3. Die m. M. R. mit elektrochemisch reinen Eiweißkörpern: Das elektrochemisch rein dargestellte Albumin zeigt bei p_H 7,0 in allen Konzentrationen keine Fällung des Mastixsols, wie nach dem oben ausgeführten zu erwarten war, da dieser Eiweißkörper seinen isoelektrischen Punkt bei einem p_H von 4,8 hat. Das elektrochemisch reine γ -Globulin des Serums ergibt eine m. M. R. wie sie in Abb. 3 dargestellt ist (Versuch III/20). Wir finden, wie auf Grund des elektrochemischen Verhaltens vorauszusehen war, eine starke Fällung des Mastixsols, die mit fallender Eiweißkonzentration natürlich abnimmt.

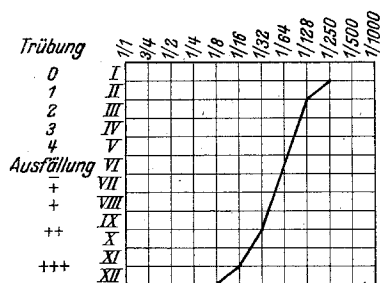


Abb. 3. Die modifizierte Mastixreaktion mit elektrophoretisch rein dargestelltem γ -Globulin. (Lösung 87 mg-%ig.)

Es ergab sich ferner, daß aus dem Serum kataphoretisch rein dargestelltes γ -Globulin innerhalb der Fehlergrenze¹ die gleiche Fällkraft besitzt, wie aus normalen und pathologischen Liquores auf elektrochemischem Wege isoliertes γ -Globulin (Versuch III/24, III/20). Das wird

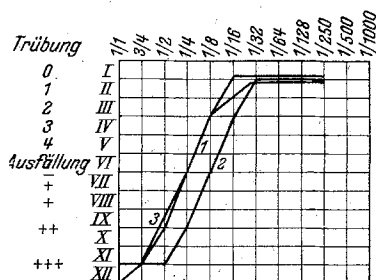


Abb. 4. Die modifizierte Mastixreaktion mit elektrophoretisch aus 1. normalem Liquor, 2. Serum und 3. paralytischem Liquor dargestellten γ -Globulin. (Eiweißkonzentration jeweils 14 mg-%ig.)

ursprünglichen Konzentration abhängt. Die durch Halbsättigung mit Ammonsulfat erzielte „Globulin“-Fällung eines albuminreichen Liquors enthält verhältnismäßig weniger Globulin bzw. noch eine beträchtlichere Menge Albumin als die einer globulinreichen Cerebrospinalflüssigkeit.

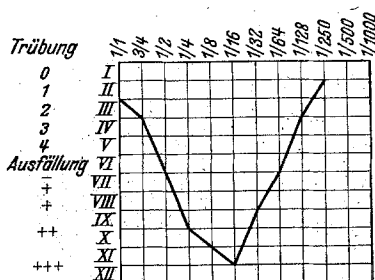


Abb. 5. Die modifizierte Mastixreaktion mit elektrophoretisch rein dargestelltem β -Globulin. (Lösung 80 mg-%ig.)

elektrochemische Verfahren ließ eine solche Trennung nicht zu. Da nun aber der Gehalt an β -Globulin und sein quantitatives Verhältnis

auf Abb. 4 sichtbar. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu Schlußfolgerungen, die frühere Autoren (KAFKA, SAMSON u. a.) aus andersartigen Befunden gezogen haben. Dieser Widerspruch erklärt sich ohne weiteres aus der Tatsache, daß die genannten Untersucher nicht mit elektrochemisch reinen γ -Globulinlösungen arbeiteten.

Eiweißkörper, die mit Hilfe der Ammonsulfatfällung ohne besondere Reinigung dargestellt werden, sind immer Gemische, wobei das Verhältnis der einzelnen Komponenten von ihrer ursprünglichen Konzentration abhängt. Die durch Halbsättigung mit Ammonsulfat erzielte „Globulin“-Fällung eines albuminreichen Liquors enthält verhältnismäßig weniger Globulin bzw. noch eine beträchtlichere Menge Albumin als die einer globulinreichen Cerebrospinalflüssigkeit.

Da das Albumin, wie wir weiter unten sehen werden, die Fällung des γ -Globulins hemmt, wird man im ersten Fall eine weniger tiefe Mastixkurve bekommen als im zweiten. Weiterhin verhalten sich die beiden Globuline, nämlich das γ -Globulin und das β -Globulin² hinsichtlich ihrer Fällkraft vollkommen verschieden, wie weiter unten gezeigt werden wird. Mit Hilfe der Ammonsulfat- oder anderer Salzfällungen lassen sich diese beiden Eiweißkörper aber nicht differenzieren.

Auch das von DUENSING benutzte elektrochemische Verfahren ließ eine solche Trennung nicht zu. Da nun aber der Gehalt an β -Globulin und sein quantitatives Verhältnis

¹ Diese Fehlergrenze ist verhältnismäßig groß, da das γ -Globulin von allen Eiweißkörpern elektrochemisch am uneinheitlichsten ist, worauf schon TISELIUS hingewiesen hat.

² Das α -Globulin kann in erster Näherung zunächst vernachlässigt werden, da seine Konzentration im Liquor gering ist.

zum γ -Globulin in den einzelnen pathologischen Liquores sehr verschieden ist, enthielten auch die aus diesen Cerebrospinalflüssigkeiten dargestellten Globulinfractionen ganz unterschiedliche Anteile der beiden Globuline. Mit dieser methodischen Kritik läßt sich aber die von einigen Autoren vertretene Ansicht, nämlich es gebe ein besonderes Paralyse-, Schizophrenie- und Normaleiweiß usw. im Liquor jedenfalls in der vorgebrachten Form nicht aufrecht erhalten. Vielmehr stellt der Versuch der Abb. 4 einen weiteren eindrucksvollen Beweis für die Identität der im Serum, normalen und paralytischen Liquor vorhandenen γ -Globuline dar.

Das elektrochemisch rein dargestellte β -Globulin zeigt bei p_H 7 einen ausgesprochenen Konzentrationseffekt. Abb. 5 läßt erkennen, daß in höheren Konzentrationen keine Veränderung eintritt, daß aber in dem etwa 5–12 mg-% β -Globulin enthaltenden Röhrchen eine starke Fällung beobachtet wird, die in noch geringeren Konzentrationen sehr rasch wieder zurückgeht. Das β -Globulin nimmt in seinem elektrochemischen Verhalten eine Mittelstellung zwischen Albumin und γ -Globulin ein. Sein isoelektrischer Punkt liegt bei einem p_H von 5,12. Bei p_H 7 fällt der β -Globulin-Mastix-Komplex dann nicht, wenn eine große Menge Eiweiß in ihn eingebaut ist, d. h. bei hoher Eiweißkonzentration der Lösung. Wir werden sehen, daß dieses Verhalten, der Konzentrationseffekt, nicht für das β -Globulin allein charakteristisch ist; vielmehr zeigen *alle* Eiweißkörper einschließlich des Albumins diesen Konzentrationseffekt, wenn man sie in einem bestimmten p_H -Bereich jenseits oder diesseits des isoelektrischen Punktes mit einem Kolloid zusammenbringt. p_H 7,0 ist gerade die geeignete Wasserstoffionenkonzentration für einen starken Konzentrationseffekt des β -Globulins, der von größter diagnostischer Bedeutung erscheint.

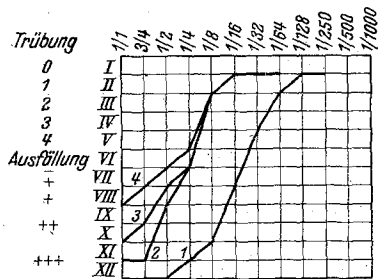


Abb. 6. Der Einfluß des Albumins auf die Kurve des γ -Globulins.

Kurve 1: 25 mg-%ige Lösung reines γ -Globulin. Kurve 2: 25 mg-% γ -Globulin und 8 mg-% Albumin. Kurve 3: 25 mg-% γ -Globulin und 25 mg-% Albumin. Kurve 4: 25 mg-% γ -Globulin und 75 mg-% Albumin. Das Albumin hemmt ziemlich gleichmäßig in allen Konzentrationen.

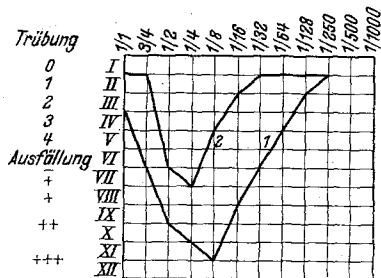


Abb. 7. Der Einfluß des Albumins auf die Kurve des β -Globulins. Kurve 1: 50 mg-%ige Lösung reines β -Globulin.

Kurve 2: 50 mg-% β -Globulin und 50 mg-% Albumin. Das Albumin hemmt ziemlich gleichmäßig in allen Konzentrationen.

4. Der Einfluß des Albumins auf die Fällung des γ - und β -Globulins.

Werden Albuminmoleküle in den adsorbierten Eiweißfilm bzw. in den Mastix-Eiweißkomplex eingebaut, so ist, wie schon erwähnt wurde, eine

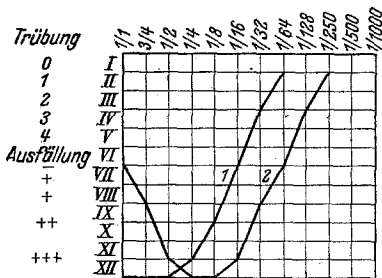


Abb. 8. Der Einfluß des β -Globulins auf die Kurve des γ -Globulins. Kurve 1: 40 mg-%ige Lösung reines γ -Globulin. Kurve 2: 40 mg-% γ -Globulin und 60 mg-% β -Globulin. Die Kurve 2 zeigt die hemmende Wirkung des β -Globulins in hohen Konzentrationen und die fördernde Wirkung auf die Fällung in niederen Konzentrationen. Es entsteht ein absteigender Kurvenschenkel, der von dem durch den pH -Effekt bei der Normomastixreaktion hervorgerufenen, wohl zu unterscheiden ist.

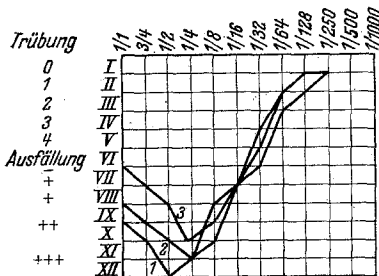


Abb. 9. Einfluß von Albuminzusatz auf eine Mischung von β - und γ -Globulin. Kurve 1: 25 mg-% β -Globulin und 25 mg-% γ -Globulin. Kurve 2: 25 mg-% β -Globulin und 25 mg-% γ -Globulin und 33 mg-% Albumin. Kurve 3: 25 mg-% β -Globulin und 25 mg-% γ -Globulin und 133 mg-% Albumin. Das Albumin hemmt ziemlich gleichmäßig, ohne den Kurventypus zu verändern.

Hemmung der Fällung zu erwarten, weil die elektrochemischen Eigenschaften des Albumins dann mit denen der anderen Eiweißkörper interferieren. Dies ist in der Tat der Fall. Abb. 6 zeigt diese Wirkung verschiedener Albuminkonzentrationen auf die Fällung des γ -Globulins. Wie ersichtlich, erstreckt sich der hemmende Einfluß des Albumins auf alle Röhrchen, d. h. auf alle Eiweißverdünnungen fast gleichmäßig, die Kurve wird vor allem flacher, aber auch schmaler. Das kann bei genügender Menge Albumin so weit gehen, daß die Fällung des γ -Globulins überhaupt verhindert wird. Diese gleiche Wirkung übt das Albumin auf die Kurve des β -Globulins aus (Abb. 7).

5. Der Einfluß des β -Globulins auf die Fällung des γ -Globulins. Zu erwarten ist eine hemmende Wirkung des β -Globulins in höheren Konzentrationen, d. h. in den ersten Röhrchen auf die Fällung des γ -Globulins, während sich bei niederen β -Globulinkonzentrationen die Fällkraft dieses Eiweißkörpers zu der des γ -Globulins addiert. Dieser zweite Effekt wird allerdings nur dann in Erscheinung treten, wenn das β -Globulin den γ -Körper quantitativ sehr stark überwiegt, weil das γ -Globulin an sich schon eine sehr starke Fällkraft hat. Abb. 8 zeigt sehr deutlich die hemmende Wirkung des β -Globulins in

höheren Konzentrationen während mit reinem γ -Globulin bei der hier gegebenen Konzentration eine Ausfällung bis XII in den ersten Röhrchen eintritt, wird durch den Einfluß des β -Globulins im ersten Röhrchen nur eine Ausfällung bis VI erzielt. Es entsteht ein absteigender

Kurvenschenkel. *Zur klaren Darstellung dieses Verhaltens ist die Ausschaltung des p_H -Effektes naturgemäß von besonderer Bedeutung. Bei der m.M.R. verschiebt also das β -Globulin das Fällungsmaximum nach rechts.*

6. *Das Verhalten von Mischungen der drei Eiweißkörper bei der m.M.R.* Da das Albumin in allen Konzentrationen ziemlich gleichmäßig hemmt, wird es die Interferenz zwischen β - und γ -Globulin nicht wesentlich stören, d. h. den hierdurch bedingten Kurventypus mit nach rechts verschobenen Maximum belassen, aber die Fällung in allen Röhrchen verringern, das Niveau der Kurve also heben (Abb. 9).

Die beschriebenen Verhältnisse ließen sich in sehr zahlreichen Versuchen immer wieder reproduzieren. *Dabei konnten die meisten der in der praktischen Liquordiagnostik vorkommenden Kurventypen durch entsprechende Mischungen der drei Eiweißkörper experimentell hervorgerufen werden.* In der ersten und dritten Mitteilung dieser Serie ließ sich zeigen, daß die Liquoreiweißkörper — von offenbar seltenen Ausnahmen abgesehen — die elektrochemischen Kriterien der Serumproteine besitzen. *Hiernach werden also die verschiedenen Kurvenbilder der m.M.R. im Liquor einfach dadurch erzeugt, daß die drei Eiweißkörper in der Cerebrospinalflüssigkeit in wechselnder Menge vorhanden sind.* Umgekehrt muß es daher möglich sein, bei Kenntnis der Gesamteiweißkonzentration aus dem Kurventypus der m.M.R. einen Rückschluß auf die Zusammensetzung der Liquorproteine zu ziehen. Quantitative Aussagen erlaubt die Kolloidreaktion allerdings nicht, d. h. es läßt sich nicht genau angeben, wie groß der Prozentgehalt an Albumin, β -Globulin und an γ -Globulin in dem betreffenden Liquor ist. Die Fehlergrenze ist für eine solche quantitative kolloidchemische Titration der Eiweißkörper zu groß. Dagegen sind qualitative und angenäherte Schlüsse aus der Kurvenform auf die Zusammensetzung der Liquoreiweißkörper; d. h. auf die Natur des eiweißhaltigen Ex- bzw. Transsudates in der Cerebrospinalflüssigkeit durchaus möglich. Die Verhältnisse werden am übersichtlichsten, wenn man folgendermaßen vorgeht: Aus Kataphoreseversuchen hat sich ergeben, daß die Proteine im Liquor in einem Mischungsverhältnis vorhanden sein können wie im Serum. Wir sprechen dann künftig von einer *serösen* Zusammensetzung des Liquoreiweißes. Mitunter überwiegt das Albumin die beiden Globuline erheblich, der Globulin-Albuminquotient liegt niedrig. Diesen Exsudat- bzw. Transsudat-typus nennen wir *vorwiegend albuminös*. Er steht in schroffem Gegensatz zu einer anderen Form, die wir vornehmlich bei der Paralyse und der multiplen Sklerose finden. Hier tritt das γ -Globulin quantitativ besonders hervor. Daher heißen wir diesen Typus den *vorwiegend γ -globulinösen*.

Neben diesen drei Typen, die sich sehr deutlich herausheben, scheint es noch andere Möglichkeiten zu geben. Weniger scharf läßt sich eine

Form abgrenzen, bei der die schnell wandernden Globuline, das β -Globulin, vielleicht auch das α -Globulin mengenmäßig besonders hervortreten. Wir werden diesen Typus den *serösen* mit *Betonung des β -Globulins* nennen. Hierdurch soll zum Ausdruck gebracht werden, daß fließende Übergänge zur serösen Form bestehen. Es ist ferner fraglich, ob es sich um einen einheitlichen Typus handelt, *da sich das β -Globulin nach neueren Untersuchungen wiederum in drei elektrochemisch verschiedene Komponenten (β' , β'' und β''') aufspalten läßt¹*. Nur sehr ausgedehnte kataphoretische Untersuchungen können hier völlige Klarheit schaffen. Die Tabelle 1 gibt noch einmal eine Übersicht über die verschiedenen Ex-(Trans-)sudattypen:

Tabelle 1.

Natur des Ex-(Trans-)sudates	Globulin-Albumin-Quotient	β -Globulin- γ -Globulin-Quotient
Vorwiegend albuminös	bis 0,10	um 1,0
Serös	bis 0,50	um 1,0
γ -globulinös	von 0,8—2,0	sehr niedrig
Serös mit Betonung des β -Globulins . . .	von 0,4—0,8	größer als 1,0

Die Zahlen der Tabelle 1 sollen zunächst nur einen groben Anhaltspunkt geben. Sie werden im Laufe weiterer Untersuchungen fortlaufend verbessert.

Unter Berücksichtigung der eben beschriebenen Verhältnisse läßt sich nun ein Schlüssel für die m. M. R. aufstellen, der es gestattet, den Ex-, bzw. Transsudattypus aus der Kolloidreaktion abzulesen (Abb. 10). Auch dieses Schema ist naturgemäß noch vorläufig und verbesserungsbedürftig. Es kann aber in der auf Abb. 10 dargestellten Form immerhin schon heute klinisch wertvolle Anhaltspunkte geben: Nach Bestimmung des Gesamteiweißgehaltes sucht man die diesem entsprechende waagerechte Reihe des Schlüssels auf. Innerhalb dieser Reihe wird nun *der* Kurventypus des Schlüssels aufgesucht, der am besten zu der zu bestimmenden Kurve paßt; dann wird in der senkrechten Kolonne die Natur des Exsudates bzw. Transsudates abgelesen. Interpolationen sind naturgemäß notwendig.

Abb. 10 ergibt im einzelnen noch folgendes: Bei niedrigem Eiweißgehalt bis 40 mg% läßt sich durch genügend hohe Albumin-Konzentration die Fällung der Globuline völlig unterdrücken. Wir erhalten dann wie im normalen Liquor eine gerade Kurve. Der normale Liquor stellt also ein vorwiegend albuminöses Transsudat dar. Steigt der Globulin-Albumin-Quotient, so entsteht eine Linkskurve, die in den ersten Röhrchen um so tiefer ist, je größer der γ -Globulin-Gehalt wird. Bei einem

¹ Diese Aufspaltung wurde nur in 2—3%igen durch Halbsättigung mit Ammonsulfat aus Serum dargestellten Globulinlösungen gefunden. Sie ist reproduzierbar:

dem Serum entsprechenden β -Globulin- γ -Globulin-Quotienten kommt es wegen der geringen β -Globulin-Konzentration noch nicht zu einer Rechtsverschiebung; erst bei Zunahme des β -Globulin-Gehaltes (3a, Abb. 10) erscheint eine mehr oder weniger tiefe Zacke mit absteigendem Kurvenschenkel. Bei hohem γ -Globulin-Gehalt (4a, Abb. 10) entsteht

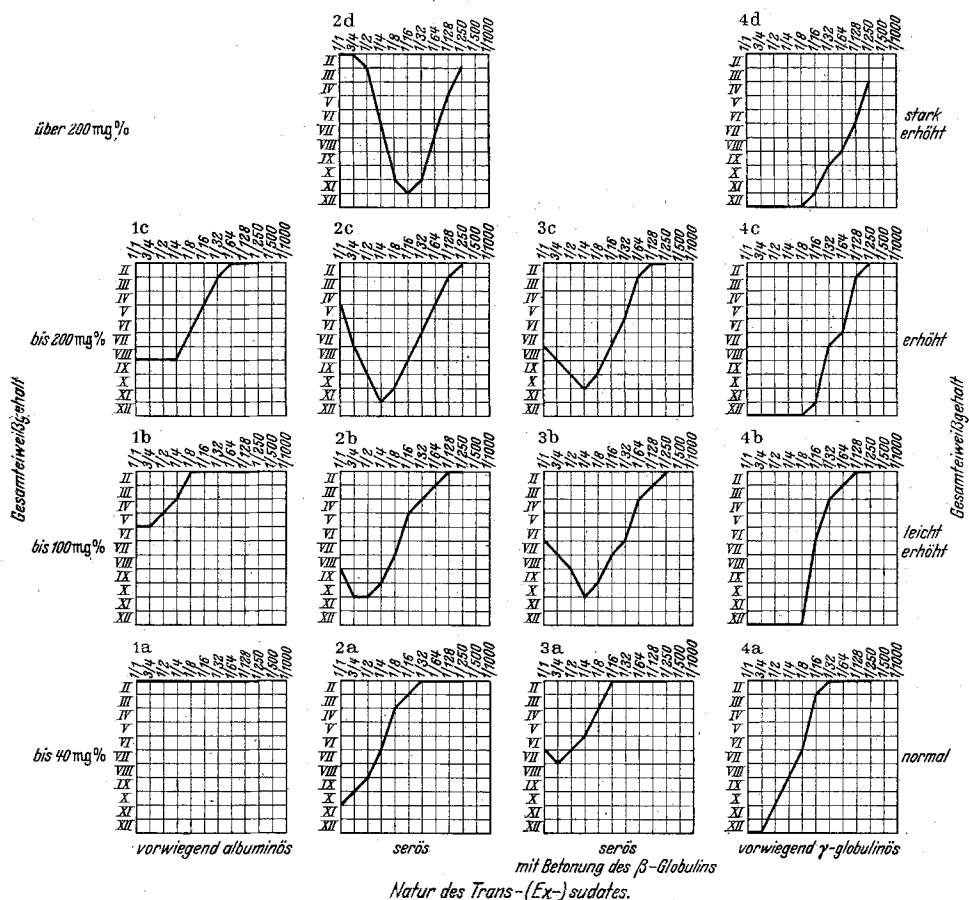


Abb. 10.

eine ausgesprochene Linkskurve mit maximaler Ausfällung in den ersten Röhren. Steigt der Gesamteiweißgehalt, so bekommt man bei dem vorwiegend albuminösen Typus eine verhältnismäßig kleine Linkszacke. Beim serösen Typus wird die Rechtsverschiebung wegen der zunehmenden β -Globulin-Konzentration immer ausgesprochener (2b, c, d, Abb. 10). Sind die schnellen Globuline, z. B. das β -Globulin, im Liquor stark vertreten, so wird diese Rechtsverschiebung noch stärker (3a, b, c, Abb. 10). Ansteigen der γ -Globulin-Konzentration bewirkt eine immer ausgesprochenere tiefe Fällung in den ersten Röhren (4a, b, c, d, Abb. 10).

C. Die pathophysiologische Bedeutung der modifizierten Mastixreaktion für die Klinik.

Das wichtigste Ergebnis, das aus unseren experimentellen Untersuchungen für die klinische Anwendung der m. M.R. zu folgern ist, liegt in der Tatsache, daß der Kurventypus im Verein mit der Gesamteiweißbestimmung den Typus des Exsudates bzw. Transsudates zu bestimmen gestattet. Bei Reihenuntersuchungen läßt sich mit Hilfe der einfachen m. M.R. auf einer viel breiteren Materialgrundlage arbeiten als mit der verhältnismäßig komplizierten kataphoretischen Methode. Dafür liefert die Mastixreaktion keine genaueren quantitativen Angaben, so daß die Resultate immer wieder wenigstens stichprobenhaft mit Hilfe der Kataphorese kontrolliert werden müssen. Die Aussagen, die sich aus dem Kurventypus der Kolloidreaktion machen lassen, genügen aber für viele pathologisch-physiologische und klinische Fragen. Die Zahl der mit der m. M.R. durchgeführten Untersuchungen — etwa 300 — ist naturgemäß noch nicht für endgültige Schlußfolgerungen ausreichend. Es wird hierfür notwendig sein, die gesamte Liquordiagnostik nach den hier entwickelten Gesichtspunkten durchzuarbeiten, wozu die Mit Hilfe anderer Untersucher notwendige Bedingung ist. Immerhin gestattet unser Untersuchungsmaterial einige vorläufige Aussagen, die zugleich für die künftige Forschung Richtlinien abgeben können.

Der normale Liquor stellt ein vorwiegend albuminöses Transsudat dar, so daß die in geringen Mengen vorhandenen Globuline, vor allem das γ -Globulin, wegen der Hemmung durch das quantitativ relativ stark vertretene Albumin keine Fällung des Mastixsols erreichen können. Dies alles gilt für den menschlichen Liquor. Es hat den Anschein, als ob sich die Zusammensetzung mancher normaler tierischer Cerebrospinalflüssigkeiten mehr dem serösen Typus nähert. Jedenfalls zeigt z. B. der normale Affenliquor mitunter eine Kolloidkurve des Typus 2a der Abb. 10. *Die Eiweißkörper des normalen Liquors haben die elektrochemischen Eigenschaften der Serumeiweißkörper, so daß wir ihre Herkunft aus dem Blut annehmen müssen.* Offenbar sind schon die normalen Capillaren, die dem Liquorraum unmittelbar benachbart sind, so gebaut, daß sie in Spuren Eiweiß, beim Menschen vorwiegend Albumin, durchlassen. Bei anderen Säugetieren sind sie etwas stärker globulindurchlässig.

Pathologische Liquorbefunde sind unter den folgenden Bedingungen zu erwarten, wobei wir von dem seltenen Fall, daß Nicht-Serumeiweißkörper in der Cerebrospinalflüssigkeit auftreten, absehen:

a) *Pathologische Zusammensetzung des Blutserums bei normaler Capillarwand:* z. B. bei starker γ -Globulinvermehrung im Serum, wie sie bei manchen Infektionskrankheiten (Kala-Azar) oder bei multiplen Myelomen vorkommt.

Typus des Transsudates: vorwiegend γ -globulinös.

b) *Pathologische Durchlässigkeit der Capillarwände bei normaler oder annähernd normaler Serumzusammensetzung.*

1. *Transsudation infolge einer allgemeinen Capillarerkrankung ohne besondere Bevorzugung des Zentralnervensystems*; z. B. bei Nierenerkrankungen, beim Myxödem usw. Typus des Transsudates: noch unbekannt, wahrscheinlich serös.

2. *Transsudation durch pathologisch gebaute Capillarwände*: z. B. in Tumorcysten.

Typus des Transsudates: vorwiegend albuminös oder serös.

3. *Transsudation infolge einer Starungshyperämie*; z. B. bei Tumoren, aber auch bei dekompensierten Herzfehlern.

Typus des Transsudates: vorwiegend albuminös oder serös.

4. *Exsudation bei entzündlichen Capillarwandschädigungen*; z. B. bei allen entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems, soweit sich die mit dem Liquor in Beziehung stehenden Capillaren beteiligen.

Typus des Exsudates:

a) Vorwiegend albuminös; z. B. bei der Rückbildung von Meningitiden oder Polyneuritiden;

b) serös; z. B. bei Meningitiden, Polyneuritiden, im Reparationsstadium der Poliomyelitis;

c) serös mit Betonung des β -Globulins; z. B. bei manchen Polyneuritiden;

d) vorwiegend γ -globulinös; z. B. bei der Paralyse, der multiplen Sklerose und der einheimischen Panencephalitis.

Mit dieser Aufstellung, die zum Teil allerdings noch Programm ist und voraussichtlich mit der weiteren Sammlung von Material noch modifiziert werden muß, ist wenigstens ein vorläufiger Überblick über die pathologische Physiologie der Liquordiagnostik gewonnen. Einige Punkte bedürfen noch einer besonderen Besprechung.

Daß eine pathologische Zusammensetzung des Serums einen Einfluß auf den Liquor ausüben wird auch dann, wenn keine Erkrankung des Zentralnervensystems bzw. seiner Häute vorliegt, ist auf Grund unserer Befunde durchaus naheliegend. Der strenge Beweis steht jedoch noch aus. Wir selbst beobachteten drei Fälle von Kala-Azar mit einer enormen γ -Globulinvermehrung im Serum, die alle drei den gleichen Liquor zeigten und zwar bei normalem Eiweißgehalt und Zellgehalt ein vorwiegend γ -globulinöses Transsudat. Cerebrale Störungen bestanden bei diesen Kranken nicht, andererseits liegt kein histopathologischer Befund über das Zentralnervensystem bzw. seiner Häute vor. Seren und Liquor von Myelompatienten, bei denen ebenfalls eine außerordentliche Vermehrung des γ -Globulins im Blut beobachtet wird, standen uns nicht zur Verfügung.

Es ist bekannt, daß Erkrankungen, die zu einer allgemeinen Capillarschädigung des gesamten Körpers führen, Liquorbefunde machen.

Eigenes Material von Nephritikern oder Myxödemkranken stand uns nicht zur Verfügung. Entsprechende Untersuchungen sind aber vorgesehen.

Die Transsudation durch pathologisch gebaute Capillaren und infolge einer venösen Stauung ist in unserer dritten Mitteilung eingehend besprochen worden. Es sei hier auf diese Arbeit verwiesen. Das Transsudat zeigt vorwiegend albuminösen oder serösen Charakter. Ob auch der vorwiegend γ -globulinöse Typus vorkommt, ist noch nicht sichergestellt. Bei einem einzigen derartigen Fall unseres in der dritten Mitteilung veröffentlichten Materials war ein Beobachtungsfehler nicht auszuschließen. Später sind wir vorwiegend γ -globulinösen Transsudaten nicht mehr begegnet.

Besonderes und auch allgemein pathologisches Interesse verdienen die Befunde bei den entzündlichen Exsudaten. *In gleicher Weise, wie wir eine Einteilung dieser Exsudate nach den in ihnen vorhandenen geformten Elementen vornehmen (lymphocytär, leukocytär usw.) ist eine Typisierung nach den in der flüssigen Phase vorkommenden Eiweißkörpern möglich.* Wir können geradezu von einer vorwiegend albuminösen, serösen und vorwiegend γ -globulinösen Entzündung sprechen. Beim Syndrom von BARRÉ-GUILLAIN würde es sich nach dieser Nomenklatur z. B. um eine zellfreie seröse Entzündung handeln, bei der Meningokokkenmeningitis um eine leukocytäre seröse Entzündung, bei der Paralyse um eine lymphocytär-plasmacelluläre vorwiegend γ -globulinöse entzündliche Erkrankung.

Die einzelnen Entzündungstypen können im Laufe eines Krankheitsverlaufes wechseln (Poliomyelitis) oder der Charakter der geformten Elemente und des flüssigen Exsudates bleibt dauernd der gleiche wie bei der Paralyse. Viele Einzelbeobachtungen müssen hier das Bild noch vervollständigen.

Eine besondere Bemerkung beansprucht noch der eigenartige Typus der vorwiegend γ -globulinösen Entzündung, wie er vor allem bei der Paralyse und der multiplen Sklerose zu beobachten ist. Das γ -Globulin, das etwa das doppelte Molekulargewicht des Albumins hat, tritt hier vorzugsweise durch die Capillaren. Das γ -Globulin ist aber insofern der interessanteste Serum- bzw. Liquoreiweißkörper, weil in ihm jedenfalls ein Teil der Antikörper enthalten ist. Wir konnten zeigen, daß auch die Wassermannreagine zur γ -Globulinfraktion des Serums und Liquors gehören. Man hat also den Eindruck, daß die vorwiegend γ -globulinöse Entzündung, die nach den bisherigen Beobachtungen immer chronischer Natur ist, mit dem Antigen-Antikörper-Mechanismus zu tun hat. *Es könnte scheinen, als ob sich der Organismus dieses Typus bedient, um unter möglichster Schonung seiner Serum-Eiweißbestände möglichst viel Antikörper in das antigenhaltige Gewebe zu bringen.* Weitere Untersuchungen über die Paralyse werden voraussichtlich diese Hypothese stützen.

Endlich noch ein Wort über die seröse Entzündung mit besonderer Betonung des β -Globulins. Es ist noch nicht ausgemacht, ob dieser Typus

häufig vorkommt und welche Bedeutung er hat. Er läßt sich zudem nur unscharf von dem einfachen serösen Typus abgrenzen.

Zusammenfassung.

A. Kolloidchemisch.

Eine weitgehende Aufklärung des kolloidchemischen Mechanismus der Mastixreaktion ist auf Grund der modernen Kenntnisse des elektrochemischen Verhaltens der Eiweißkörper in den Körpersäften heute möglich:

1. Bringt man ein Mastixsol mit einer Eiweißlösung zusammen, so entsteht ein Eiweißmastixkomplex. Dieser Komplex enthält mehr oder weniger die elektrochemischen Eigenschaften des Proteins.

2. Die Ladung (ζ -Potential) von Kolloiden ist deren Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld proportional und für die Stabilität des Sols verantwortlich zu machen. Diese elektrochemischen Eigenschaften sind von der Ionenkonzentration (Ionenstärke) einschließlich dem p_H des Milieus abhängig.

3. Beim Ansetzen von Verdünnungsreihen, wie sie bei der Mastixreaktion üblich sind, muß daher der beim Verdünnen mit Normosal immer vorhandene p_H -Effekt ausgeschaltet werden. In allen Röhrchen soll das gleiche p_H herrschen ($7,05 \pm 0,05$). Dies wird durch Dialysieren der Eiweißlösung (Liquors) gegen einen entsprechenden Puffer erreicht. (*m. M. R.*)

4. Die drei in wesentlicher Konzentration im Liquor vorkommenden Serumeiweißkörper, nämlich das Albumin, das β -Globulin und das γ -Globulin haben bei p_H 7 eine in der genannten Reihenfolge abnehmende kataphoretische Wanderungsgeschwindigkeit. Daher flockt der γ -Globulin-Mastixkomplex unter bestimmten Bedingungen, unter denen die Albumin-Mastixteilchen stabil bleiben. Die β -Globulin-Mastix-Partikel sind bei den gleichen Bedingungen und bei höheren Eiweißkonzentrationen stabil, fallen aber bei niederen aus. Das β -Globulin zeigt also einen ausgesprochenen *Konzentrationseffekt*, der für seine Charakterisierung von besonderer Bedeutung ist.

5. Bei der *m. M. R.* gibt also das Albumin keine Fällung, das γ -Globulin eine starke Flockung, die in den höchsten Konzentrationen am ausgeprägtesten ist (Linkskurve). Das β -Globulin fällt nur in einem bestimmten Konzentrationsbereich (mittelständige Kurve).

6. Bei Mischungen der drei Eiweißkörper hemmt bzw. verringert das Albumin in allen Konzentrationen fast gleichmäßig die Fällung der beiden anderen, das β -Globulin hemmt die des γ -Globulins bei höheren und fördert sie bei niederen Konzentrationen.

7. *Durch entsprechendes Mischungsverhältnis der drei Eiweißkörper des Serums läßt sich jede mögliche Kolloidkurve erzeugen. Umgekehrt erlaubt der Kurventypus Rückschlüsse auf das Mischungsverhältnis.*

B. Klinisch bzw. pathologisch.

Eine weitgehende Aufklärung der *pathologisch-physiologischen Bedeutung der Mastixreaktion* ist auf Grund der eben dargestellten Erkenntnisse möglich:

1. Es ist nicht gerechtfertigt, ein spezifisches Paralyse-, Schizophrenie-, Normaleiweiß usw. im Liquor anzunehmen. Derartige Schlußfolgerungen beruhen auf einer unzureichenden Methodik in der Untersuchungstechnik der Liquoreiweißkörper.

2. Die Liquoreiweißkörper sind vielmehr, von seltenen Ausnahmen abgesehen, Serumeiweißkörper, die aus dem Plasma durch normale oder erkrankte Capillaren in den Liquor gelangten.

3. Das Mischungsverhältnis der in den Liquor übergetretenen Serum-Eiweißkörper ist bei den verschiedenen pathologischen Verhältnissen verschieden. Wir nennen das Ex- bzw. Transsudat *serös*, wenn die Zusammensetzung dem Serum entspricht, *vorwiegend albuminös*, wenn das Albumin besonders stark vertreten ist und *vorwiegend γ -globulinös*, wenn das γ -Globulin die erkrankten Capillarmembranen bevorzugt durchdringt.

4. Der Kurventypus bei der m.M.R. zeigt unter Berücksichtigung der Gesamteiweißkonzentration den Typus des Trans (Ex-)sudates an. Ein entsprechender Schlüssel ist in dieser Arbeit angegeben (Abb. 10).

5. Bei Eiweißdurchlässigkeit der Capillaren infolge von Stauungshyperämien (z. B. bei Geschwülsten des Zentralnervensystems) findet sich ein *vorwiegend albuminöses* oder *seröses* Transsudat.

6. Die Entzündungsprozesse kann man entsprechend der Zusammensetzung des Exsudates einteilen. Die m.M.R. läßt den Entzündungstypus erkennen. *Hierin liegt ihr eigentlicher diagnostischer Wert bei diesen Erkrankungen.*

7. Die Entzündungen mit vorwiegend γ -globulinösem Exsudat verdienen besondere Beachtung. Sie kommen vornehmlich bei der progressiven Paralyse und bei der multiplen Sklerose vor. Da das γ -Globulin antikörperhaltig ist, liegt die Vermutung nahe, daß dieser Mechanismus dazu dient, möglichst viel antikörperhaltiges Protein unter Schonung der anderen Serumeiweißbestände an das antigenhaltige Gewebe heranzuführen.

Literatur.

Ausführliche Angaben der Literatur über Kolloidreaktionen finden sich bei DUENSING, F.: Z. Neur. **169**, 471 (1940). — GEORGI, F. u. Ö. FISCHER: Humoralpathologie der Nervenkrankheiten. Handbuch der Neurologie, Bd. VII. Berlin 1935. — KAFKA, V.: Die Cerebrospinalflüssigkeit. Leipzig 1930.

ABRAMSON, H. A.: Trans. Faraday Soc. **35**, 5 (1940). — EAGLE, H.: Bull. Hopkins Hosp., Baltim. **47**, 292 (1930). — MOYER, L. S.: Cold Spring Harbor Symp. on quantit. Biology **6**, 228 (1938). — PAULI, W. u. P. DESSAUER: Helvet. chim. Acta **25**, 1225 (1943). — TISELIUS, A. and H. SVENSSON: Trans. Faraday Soc. **35**, 16 (1940). — WUNDERLI und WÜHRMANN: Schweiz. med. Wschr. **1945**.