

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

Studien zur pathologischen Physiologie des Liquor cerebrospinalis.

V. Mitteilung.

**Vergleichende Untersuchungen über die Kolloidreaktionen,
ihre kolloidchemischen Mechanismen
und über ihre praktische Anwendung in der Diagnostik.**

Von

K. F. SCHEID †, LOTTE SCHEID und WERNER SCHNEIDT.

Mit 14 Textabbildungen (37 Einzelbildern).

(Eingegangen am 21. November 1944.)

A. Einleitung.

In der I. und III. Mitteilung dieser Serie konnte gezeigt werden, daß die Liquoreiweißkörper in der Mehrzahl die elektrochemischen Eigenschaften der Serumproteine aufweisen. Anscheinend kommen nicht im Blut vorhandene Eiweißkörper in der Rückenmarkflüssigkeit nur selten vor.

Das Mischungsverhältnis der im Liquor auftretenden Serum- bzw. Plasmaproteine ist bei den einzelnen Krankheiten sehr verschieden. Wir konnten im wesentlichen drei Typen unterscheiden, nämlich: 1. den „vorwiegend albuminösen“, bei dem das Albumin die beiden bzw. drei Globuline mengenmäßig überwiegt, 2. den „serösen“ Typus mit einer serumähnlichen Zusammensetzung und 3. den „vorwiegend γ -globulिनösen“, wobei das γ -Globulin des Serums bevorzugt im Liquor erscheint.

Es gelang ferner der Nachweis, daß sich aus dem Ausfall der Mastixreaktion Rückschlüsse auf dieses Mischungsverhältnis der Liquoreiweißkörper machen lassen, wenn man diese Kolloidreaktion nach kolloidchemisch richtigen Gesichtspunkten anstellt: Modifizierte Mastixreaktion (m.M.R.) der IV. Mitteilung.

Endlich konnte der Mechanismus der m.M.R., soweit er pathophysiologisch von Interesse ist, aufgeklärt werden, und zwar unter Berücksichtigung der elektrochemischen Eigenschaften der einzelnen in Frage kommenden Proteine. In den theoretischen Vorbemerkungen der vorigen Mitteilung wurden die zum Verständnis notwendigen physikalisch-chemischen Begriffe und Tatsachen entwickelt. Wir verweisen auf diese Ausführungen und wollen in dieser Mitteilung an das dort Gesagte anknüpfen.

Durch weitere Versuche soll die gegebene Erklärung der Mastixreaktion gesichert, erweitert und auf andere Kolloidreaktionen, nämlich die Goldsolreaktion und die Salzsäurecollargolreaktion ausgedehnt werden. Es wird dann unsere Aufgabe sein, die Brauchbarkeit der einzelnen Methoden zu vergleichen und kritisch zu überprüfen. *Als Maßstab genügt uns hierfür die sog. „klinische Bewährung“ aber keinesfalls.* Das Verfahren, den Ausfall einer Reaktion unmittelbar mit klinischen Daten in Beziehung zu bringen, ist trotz seiner Beliebtheit in der Medizin so grob empirisch und beinahe vorwissenschaftlich, daß wir es da ablehnen müssen, wo es möglich ist, eine derartige Reaktion auf verhältnismäßig einfache physikalisch-chemische Tatbestände zurückzuführen. Mit anderen Worten: *Eine Kolloidreaktion ist zunächst ein physikalisch-chemisches Experiment, sie ist dann brauchbar, wenn dieser Versuch eine klare Antwort auf die Frage nach der chemischen bzw. physikalischen Beschaffenheit der mit der Reaktion untersuchten Eiweißkörper gibt.*

Die eindeutige Antwort auf diese Frage ist dann erst von pathophysiologischer bzw. klinischer Bedeutung. Aus diesen Gründen sollten Ausdrücke wie „Paralysekurve“, „organische Zacke“, „organisch bedingte Schutzzone“ usw. als medizinisches Kauderwelsch aus unserem Sprachschatz gestrichen werden.

B. Experimenteller Teil.

a) Methodik.

1. Die Darstellung der elektrochemisch einheitlichen Eiweißkörper aus Serum und Liquor ist in der vorigen Mitteilung eingehend beschrieben worden.

2. Die *modifizierte Mastixreaktion* (m.M.R.), insbesondere die Darstellung des Mastixsols und die Dialyse der eiweißhaltigen Flüssigkeiten wurden an gleicher Stelle beschrieben. — Die *Herstellung des Goldsols* bereitet weniger Schwierigkeiten, wenn folgende Punkte berücksichtigt werden. a) Es findet nur *doppelt* destilliertes Wasser Anwendung. b) Für gute mechanische Rührung der kochenden Goldchlorid-Traubenzuckerlösung ist zu sorgen. Dies geschah mit Hilfe eines elektrischen Rührers und Erwärmung auf der Heizplatte. c) Es wird jeweils nur 200 ccm Goldsol hergestellt, die einzelnen Portionen werden zusammengegossen. Hierdurch erzielt man einmal viel gleichmäßigere Resultate und durch das Mischen der in ihrer Dispersion nur wenig verschiedenen Sole gleichen sich die Schwankungen noch weiter aus, so daß etwa in fünf Portionen hergestellte Goldsole entsprechend einem Liter meist befriedigend reproduziert werden können. d) Die Tropfgeschwindigkeit der Carbonatlösung in die auf der Heizplatte kochende und mechanisch gerührte Goldchlorid-Traubenzuckerlösung beträgt etwa 1—2 Tropfen in der Sekunde. — Die *Collargollösung* wurde entsprechend der Vorschrift von RIEBELING angefertigt.

3. Besondere Bedeutung kommt der Herstellung von *Pufferlösungen* zu. Verwendet wurde entweder ein Gemisch von primärem und sekundärem Phosphat, mit dem sich ein pH von 4,8—8,0 erzielen läßt, oder aber der Citronensäure-Phosphatpuffer von McILOATNE, der Pufferlösungen in einem größeren pH -Bereich, nämlich von 2,5—8,0 darzustellen gestattet. Da neben dem pH die Ionenstärke

für die Versuche maßgebend ist, müssen alle diese Puffer bei verschiedenem p_H die gleiche Ionenstärke haben. Man geht zu diesem Zweck folgendermaßen vor:

Die Ionenstärke μ ist durch den Ausdruck $\mu = \frac{1}{2} \sum c_i \cdot i^2$ gegeben, wobei c_i die molare Konzentration der einzelnen Ionen der Lösung und i ihre Wertigkeit bedeutet.

$\mu \text{ Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = \frac{1}{2}$ (molare Konzentration von Na^+ + molare Konzentration von $\text{HPO}_4'' \times 4$).

$= \frac{1}{2}$ ($2 \times$ molare Konzentration von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 4 \times$
molare Konzentration von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

$= 3 \times$ molare Konzentration von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;

bei einer Ionenstärke von 0,165 ergibt sich die molare Konzentration von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ zu 0,055, d. h. 9,8 g in 1000 ccm.

$\mu \text{ Citronensäure} = \frac{1}{2}$ (molare Konzentration von H^+ + molare Konzentration von Citrat''' $\times 9$)

$= \frac{1}{2}$ ($3 \times$ molare Konzentration der Citronensäure + $9 \times$ molare Konzentration der Citronensäure)

$= 6 \times$ molare Konzentration der Citronensäure);

bei einer Ionenstärke von 0,165 ergibt sich die molare Konzentration der Citronensäure zu 0,041, d. h. 5,77 g in 1000 ccm. Durch Mischungen der 0,055 molaren Phosphat- und der 0,041 molaren Citronensäurelösungen lassen sich nun alle Wasserstoffionenkonzentrationen von p_H 2,5—8,0 erzielen, wobei sämtliche Mischungen die Ionenstärke 0,165 haben. Die Tabelle 1 gibt die Zahl der ccm jeder Lösung in Abhängigkeit zu dem p_H an, wobei die Gesamtpuffermenge jeweils etwa 80—100 ccm beträgt.

4. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration erfolgte elektrometrisch mit dem Gerät von LAUTENSCHLÄGER an der Chinhydronelektrode oder aber bei geringeren Ansprüchen an Genauigkeit ($\pm 0,2 p_H$ Einheiten) mit den Lyphanpapieren (Firma: Dr. Gerh. Klotz, Leipzig N 21). Die letztere Methode ist eine Schnellmethode, die sich innerhalb einiger Sekunden durchführen läßt. Abgesehen von einem Papierstreifen (Lyphanpapier) ist weiter keine Apparatur notwendig.

Tabelle 1.

| p_H | Na_2HPO_4 - Lösung ccm | Citronensäure- Lösung ccm | p_H | Na_2HPO_4 - Lösung ccm | Citronensäure- Lösung ccm |
|-------|--|---------------------------------|-------|--|---------------------------------|
| 3,0 | 10,10 | 70,00 | 6,0 | 56,25 | 38,85 |
| 3,5 | 21,00 | 65,00 | 6,5 | 71,25 | 35,00 |
| 4,0 | 33,00 | 66,00 | 7,0 | 70,00 | 20,00 |
| 4,5 | 35,25 | 48,75 | 7,5 | 88,75 | 10,00 |
| 5,0 | 44,00 | 50,00 | 8,0 | 80,00 | 4,00 |
| 5,5 | 41,25 | 37,50 | | | |

b) Theoretische Vorbemerkungen zum Versuchsplan.

Was die Ursache für die Reaktion des immer hydrophoben Kolloids mit dem Eiweiß anlangt, so liegen hierüber ausführliche neuere Untersuchungen und Überlegungen von PAULI und seinen Mitarbeitern vor. Es handelt sich nicht um eine einfache physikalische Adsorption. Vielmehr reagieren die ionischen Gruppen beider Körper miteinander. Das Eiweiß hat bekanntlich Zwitterionenstruktur mit sauren Carboxylgruppen und basischen Aminogruppen. Es kann als Säure und als Base

auftreten. Aus diesem Grunde vermögen Proteine sowohl mit sauren (acidoiden, elektronegativen) hydrophoben Solen wie Goldsol, Mastixsol, Silbersol, Arsen- und Antimontrisulfidsol und Kongoblausol zu reagieren als auch mit dem basischen (elektropositiven) $\text{FeO}(\text{OH})$ -Sol und dem ebenfalls elektropositiven Nachtblausol. Es bilden sich Kolloid-Eiweißkomplexe, wie sie in Tabelle 2 dargestellt sind. Die einzelnen oben angeführten hydrophoben Sole zeigen keine *grundsätzlichen* Unterschiede, auch nicht die elektronegativen und -positiven.

Sehr wesentlich für das Verhalten des gebildeten Kolloid-Eiweißkomplexes bei den Kolloidreaktionen sind nun folgende drei Variable im Versuch:

1. die Eiweißkonzentration,
2. die Wasserstoffionenkonzentration bzw. ihr negativer Logarithmus das pH ,
3. die Elektrolytkonzentration, gemessen durch die Ionenstärke μ .

Tabelle 2. *Kolloideiweißaggregate nach PAULI mit zunehmendem Gehalt der Komplexe an Proteinteilchen P. Die Kolloidteilchen sind mit K bezeichnet.*

| | | | | |
|-----------------|----------------------|-------------------------|-------|---------------|
| K | K K | K P | K P | K P |
| K P K | K P K P K | K P | P K | K P K P K P K |
| K | K K | | | K P P K P |
| Nucleäre Aggre- | Nucleäre Aggregation | Alternative Aggregation | | |
| gation | mit Brücke | | | |
| | | K P | P K | |
| | | P K | P K P | |
| | | K P | P K | |
| | | K | | |
| | | P | | |
| | | K P | | |
| | | P K | | |
| | | Lockeres Aggregat. | | |

Die *Eiweißkonzentration* bestimmt die Zahl der in den Kolloid-Eiweißkomplex eingebauten Proteinteilchen, wie es in Tabelle 2 dargestellt ist. Je mehr Eiweiß ein solches Aggregat enthält, um so mehr wird sich sein Verhalten dem eines reinen Proteinteilchens nähern. Kommen nur wenige Eiweißpartikel auf das Kolloid, wie z. B. bei der „nucleären Aggregation“, so wird ein solcher Komplex wegen der weitgehenden Absättigung der gegenseitigen Ladungen unstabiler. Das Kolloid ist durch das Eiweiß *sensibilisiert*, d. h. es fällt unter Bedingungen, unter denen ein Aggregat mit vielen Proteinteilchen noch stabil und löslich ist. Wir nannten diese Erscheinung, die wir bei der m.M.R. am β -Globulin fanden, und zur Diagnose dieses Körpers benutzten, den *Konzentrations-effekt*. Wir werden sehen, daß dieser Konzentrations- oder Sensibili-

sierungseffekt nicht auf das β -Globulin beschränkt ist, sondern unter entsprechenden Bedingungen bei allen Eiweißkörpern mehr oder weniger in Erscheinung tritt. Er ist seit langem bekannt und im Prinzip wenigstens richtig gedeutet worden (SCHMITT, DUENSING u. a.).

Die *Wasserstoffionenkonzentration* bestimmt, wie wir sehen, die Wanderungsgeschwindigkeit eines Eiweißteilchens bzw. eines Kolloid-Eiweißkomplexes im elektrischen Feld und damit die Ladung bzw. das ζ -Potential der Partikel. Diese Größen sind aber für die Stabilität der Lösung — in erster Näherung wenigstens — verantwortlich zu machen, d. h. dafür, ob es zu einer Fällung kommt oder nicht. Bei dem p_H des isoelektrischen Punktes sind die Eiweißkörper bekanntlich elektroneutrale Zwitterionen, sie haben an dieser Stelle ein Löslichkeitsminimum, sie wandern im elektrischen Felde nicht. Am isoelektrischen Punkt haben wir also eine Fällung zu erwarten.

Die Wirkung der *Elektrolytkonzentration*, gemessen an der Ionenstärke der Lösung, auf den Versuch gehorcht viel verwickelteren Gesetzmäßigkeiten. Die Elektrolyte beeinflussen nach der Theorie von DEBYE und HÜCKEL vermöge ihrer starken elektrischen Felder die Wanderungsgeschwindigkeit von Eiweißteilchen, damit das ζ -Potential und die Stabilität der Proteinlösung. Die Zusammenhänge sind hier weniger übersichtlich und bedürfen im einzelnen noch einer weiteren Klärung durch die physikalisch-chemische Forschung. Auf jeden Fall ist festzustellen, daß die Elektrolytkonzentration bei den Kolloidreaktionen sorgfältige Berücksichtigung finden muß.

Es empfiehlt sich nicht, alle drei Variablen zugleich zu verändern, wenn man eine Übersicht über ihren Einfluß bekommen will. Vielmehr erweist es sich als zweckmäßig, die Elektrolytkonzentration in einer ganzen Versuchsreihe überhaupt konstant zu halten und nur die Eiweißkonzentration und das p_H zu variieren. Wir verändern also, konstante Ionenstärken in allen Versuchsröhrchen vorausgesetzt, einmal die Eiweißkonzentration bei konstantem p_H und zweitens die Wasserstoffionenkonzentration bei konstantem Proteingehalt. Auf diese Weise werden *Verdünnungsreihen* und p_H -*Reihen* erhalten. Untersucht man so die einzelnen elektrochemisch rein dargestellten Eiweißkörper, so muß sich ein erschöpfender Überblick über alle bei den Kolloidreaktionen zu erwartenden Erscheinungen ergeben.

Eine systematische Untersuchung über den Einfluß des p_H und der Eiweißkonzentration auf den Ausfall der Kolloidreaktionen mit elektrochemisch einheitlichen Proteinen lag bisher nicht vor. Dagegen sind wichtige Vorarbeiten von KAFKA, SAMSON, BLOCH und BIBERFELD, SCHMITT, RIEBELING und vor allem neuerdings von DUENSING geleistet worden.

Im folgenden soll eine kurze kritische Übersicht über die wichtigste Literatur gegeben werden:

Verdünnungsreihen sind in der Liquordiagnostik schon bei der ersten Kolloidreaktion von LANGE ausgeführt worden. Die *Goldsolreaktion* ist tatsächlich praktisch eine reine Verdünnungsreihe mit konstantem p_H und konstanter Ionenstärke, bedingt durch die verhältnismäßig hohe Liquorverdünnung schon im ersten Röhrchen. Es ist natürlich notwendig, die Elektrolytkonzentration bei *allen* Goldsolreaktionen immer konstant zu halten. Durch den Salzvorversuch (KAFKA) wird aber bewirkt, daß die Reaktionen einer Serie mit den einer anderen nicht streng vergleichbar sind. p_H -Reihen sind zuerst von KISS mit *Goldsol* ausgeführt worden. Es wurden aber weder exakte Messungen der Wasserstoffionenkonzentration noch eine genaue Adjustierung der Ionenstärke vorgenommen. RIEBELING hat mit *Collargol* eine p_H -Reihe hergestellt, aber zugleich auch die Eiweißkonzentration variiert. Ebenso stellt die Normomastixreaktion eine solche Kombination einer p_H -Reihe mit einer Verdünnungsreihe dar, wenn sich auch der p_H -Bereich im Gegensatz zur Salzsäurecollargolreaktion nur über etwa 1,5 p_H -Einheiten erstreckt. Zugleich variiert bei der Normomastixreaktion die Ionenstärke in den einzelnen Röhrchen beträchtlich.

Daß der verschiedene Ausfall der Kolloidreaktionen im Liquor mit den elektrochemischen Eigenschaften der Eiweißkörper zusammenhängt, wurde schon von BLOCH und BIBERFELD vermutet. Auch DUENSING hat die Salzsäurecollargolreaktion richtig gedeutet, wenn er die Fällungszone innerhalb der sog. Schutzzone auf den isoelektrischen Punkt der Eiweißkörper zurückführt. Bei der Paralyse vermutet er einen Eiweißkörper, dessen isoelektrischer Punkt bei p_H 6,0 liegt. Auch dies trifft zu, und zwar handelt es sich um das γ -Globulin (vgl. die I. Mitteilung dieser Serie). Um so schwerer wird verständlich, warum DUENSING die Goldsolreaktion auf völlig andere Erscheinungen zurückführen will. Silber- und Goldsole sind naturgemäß physikalisch sehr ähnlich, bei beiden reagieren die elektronegativen ionischen Gruppen mit den elektropositiven der Eiweißkörper in den Kolloidreaktionen. Es können im Verhalten der beiden Sole also höchstens quantitative Unterschiede bestehen, wie sich auch im Verlaufe dieser Arbeit erweisen wird. Die Voraussetzungen, die DUENSING seiner Erklärung der Goldsolreaktion zugrunde legt, treffen zudem sicher nicht zu. Er schreibt noch 1940: „Man muß annehmen, daß es von den feinsten bis zu den grobdispersensten Eiweißkörpern fließende Übergänge gibt.“ Das ist gerade *nicht* der Fall. Die Schule von SVEDBERG konnte schon seit langem den Beweis führen, daß natürlich vorkommende gereinigte Eiweißkörper monodispers sind. Das Blutserum ist nach Untersuchungen von VON MUTZENBECHER (1933) und M. FARLAINE (1935¹) eindeutig ein paucidisperes, nicht aber ein polydisperses System, wie DUENSING annahm.

c) Die Versuche mit Goldsol, Collargol und Mastixsol.

Das *Goldsol* ist ein polydisperses, elektronegatives hydrophobes Sol, das mit den basischen Gruppen der Eiweißkörper reagiert. Die Goldsolteilchen sind kleinste würfelförmige Kristallite von einem Durchmesser in der Größenordnung von 30 $m\mu$. Bei der sog. Rotfällung, mit der wir uns weiter unten kurz beschäftigen werden, wurde die Bindung des Goldsols an ein Virusprotein (Tabakmosaikvirus) von KAUSCHE und RUSKA

¹ Siehe auch COHN, E. J. u. J. T. EDSALL. New York 1943. — WUNDERLY and WUHRMANN. Basel 1945. — PEDERSEN, KAT: J. Phys. a. Coll. Chem. **51**, 156 (1947). — ONCLEY, J. L. u. AL.: J. Phys. a. Coll. Chem. **50**, 184 (1947).

elektronenoptisch direkt sichtbar gemacht. Das Goldsol allein ist bei der angewandten Elektrolytkonzentration in einem p_H -Bereich von 8,0—2,5 stabil, d. h. es fällt auch im sauren Bereich nicht. Setzt man elektrochemisch getrennte Serumeiweißkörper zu und variiert zugleich die Eiweißkonzentration und das p_H , so ergeben sich die in Tabelle 3 dargestellten Verhältnisse: Beobachten wir zunächst die waagrechten Reihen, längs denen sich bei konstantem p_H die Eiweißkonzentration ändert, und zwar zunächst beim Albumin. In einem Bereich von p_H 8,0—6,0 bleibt das Goldsol unverändert. Bei p_H 4,5, d. h. in der Nähe des isoelektrischen Punktes des Albumins (4,8) tritt eine starke Fällung in den ersten Röhrchen, also bei verhältnismäßig hoher Proteinkonzentration auf, die bei sinkender Eiweißmenge zurückgeht und in höchsten Verdünnungen völlig aufhört, weil sich dann praktisch keine Eiweiß-Goldkomplexe mehr bilden können. Es ergibt sich eine Linkskurve, wie wir sie normalerweise bei der Paralyse zu sehen gewohnt sind. Diesseits und jenseits des isoelektrischen Punktes (I.P.) zeigt das Albumin das Fällungsminimum nicht bei den höchsten Konzentrationen, es ist vielmehr nach rechts in das Gebiet stärkerer Verdünnungen verschoben. Mit anderen Worten: Zu beiden Seiten des isoelektrischen Punktes besteht ein ausgesprochener auf einer Sensibilisierung beruhender Konzentrationseffekt, der in stärker saurer Reaktion (p_H 3,5—2,5) deutlicher ist als auf der basischen Seite des I.P. (p_H 5,5—5,0). Dieser Konzentrationseffekt bewirkt eine Kurve mit absteigendem und aufsteigendem Schenkel und ist auf die im Abschnitt b) besprochenen Erscheinungen zurückzuführen. Grundsätzlich das gleiche Verhalten zeigen nun ebenfalls die drei Globuline, wenn auch in quantitativ wechselndem Ausmaß, wie sich ohne weiteres aus der Tabelle 3 ergibt. Immer finden wir am I.P. ein linksgelegenes Fällungsmaximum mit stärkster Verfärbung des Sols in den ersten Röhrchen, während diesseits des I.P. ein mehr oder weniger starker Konzentrationseffekt zu beobachten ist. Mit Hilfe der Goldsolreaktion läßt sich also der I.P. der untersuchten Eiweißkörper wenigstens näherungsweise schätzen, wenn man eine p_H -Reihe anlegt. Allerdings wäre hierzu eine bestimmte Mindestkonzentration an Protein notwendig, weil sonst, wie Tabelle 3 zeigt, wegen des Sensibilisierungseffektes die Fällungszonen innerhalb der *senkrechten* p_H -Reihen zu breit werden und sich übrigens auch in das saure Gebiet verschieben. Beim γ -Globulin umfaßt diese Fällungszone schon bei höheren Konzentrationen einen verhältnismäßig großen p_H -Bereich, in dessen Mitte der I.P. dieses Proteins gelegen ist. Eine feinere Differenzierung des Albumins, des α - und β -Globulins durch eine p_H -Reihe ist nicht möglich, weil die I.P. dieser Eiweißkörper zu nahe beieinander liegen. Dagegen können die drei genannten Proteine vom γ -Globulin, dessen I.P. etwa eine p_H -Einheit weiter im alkalischen liegt, unterschieden werden, genügende

Tabelle 3. p_H -Reihen und Verdünnungsreihen der elektrochemisch dargestellten Eiweißkörper bei der Goldsolreaktion. Ionenstärke in sämtlichen Röhrchen vor Zugabe des Sols 0,165 (Citratpuffer).

| p_H | Verdünnungsreihe | | | | | | | | | | |
|-------|------------------|------|------|------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 | 1:1280 | 1:2560 | 1:5120 | 1:10240 |

Albumin 57 mg-%.

| | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5,5 | 3 | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| I.P. 5,0 | 3 | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4,0 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 3,5 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 3,0 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 2,5 | 2 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |

 α -Globulin 100 mg-%.

| | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| I.P. 5,5 | 0 | 0 | 1 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 4,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 4,0 | 1 | 2 | 3 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |

 β -Globulin 30 mg-%.

| | | | | | | | | | | | |
|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8,0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7,5 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7,0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6,5 | 1 | 2 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6,0 | 2 | 4 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| I.P. 5,5 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5,0 | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4,5 | 4 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4,0 | 2 | 3 | 5 | 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3,5 | 2 | 3 | 5 | 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tabelle 3. (Fortsetzung.)

| p_H | Verdünnungsreihe | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------------------|------|------|------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 | 1:1280 | 1:2560 | 1:5120 |
| γ -Globulin 37 mg-%. | | | | | | | | | | |
| 8,0 | 4 | 4 | 5 | 5 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 7,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 7,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| I.P. 6,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 6,0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 5,5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 5,0 | 1 | 2 | 5 | 5 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 4,5 | 1 | 2 | 5 | 5 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 4,0 | 1 | 2 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 3,5 | 1 | 2 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 3,0 | 1 | 1 | 3 | 5 | 5 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 2,5 | 1 | 1 | 2 | 5 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |

Eiweißkonzentration vorausgesetzt. Andererseits lassen sich aber die Eiweißkörper ebenfalls charakterisieren, wenn man in der seit LANGE gebräuchlichen Weise eine *Verdünnungsreihe* ansetzt, d. h. unser Schema der Tabelle 3 in waagerechter Richtung liest. Bei p_H 7,0, d. h. neutraler Reaktion, geben dann das Albumin und das α -Globulin praktisch keine Fällung. Das β -Globulin erzeugt eine mitteltiefe Kurve mit einem Maximum in den mittleren Röhrchen (Konzentrations-effekt), das γ -Globulin eine Linkskurve mit stärkster Verfärbung des Sols bei hohen Proteinkonzentrationen. Wie in der vorigen Mitteilung eingehend gezeigt wurde, kann man diese verhältnismäßig charakteristischen Eigenschaften der untersuchten Proteine zu ihrer Diagnose verwenden. In Mischungen der drei Eiweißkörper entsteht eine resultierende Kurve, indem das Albumin die Fällung des β - und γ -Globulins in allen Verdünnungen gleichmäßig hemmt, das β -Globulin der Fällung des γ -Globulins aber nur in höheren Konzentrationen entgegen wirkt. Grundsätzlich kommt es also zu ganz ähnlichen Kurventypen, wie wir sie in der Abb. 10 der IV. Mitteilung bei der m.M.R. beschrieben haben. Nur in quantitativer Hinsicht bestehen Unterschiede, auf die wir weiter unten eingehen wollen.

Man könnte daran denken, die Verdünnungsreihe bei einem anderen p_H anzusetzen und die bei dieser Wasserstoffionenkonzentration auftretenden Fällungs-bzw. Schutzeffekte für die Diagnose auszunutzen. Indessen lehrt ein genaueres Studium der Tabelle 3, daß tatsächlich bei

Tabelle 4. p_H -Reihen und Verdünnungsreihen der elektrochemisch dargestellten Eiweißkörper bei der Collargolreaktion. Ionenstärke in sämtlichen Röhrchen vor Zugabe des Sols 0,165 (Citratpuffer).

| p_H | Verdünnungsreihe → | | | | | | | | | |
|-------|-----------------------|-----|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|
| | 1:2 | 1:5 | 1:10 | 1:15 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 |

Albumin 57 mg-%.

| | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| p_H -Reihe ↑ | 8,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 7,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 7,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 6,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 6,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 5,5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| | I.P. 5,0 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 4,5 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 4,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | 3 | 3 |
| | 3,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 | 3 |

α -Globulin 100 mg-%.

| | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| p_H -Reihe ↑ | 8,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 7,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 7,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 6,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 6,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 5,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | I.P. 5,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 |
| | 4,5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| | 4,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 3,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 |
| | 3,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 |

β -Globulin 100 mg-%.

| | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| p_H -Reihe ↑ | 8,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 7,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 7,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 6,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 6,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 5,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | I.P. 5,0 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 4,5 | 3 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 4,0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 3,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | 3,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | 3 |

Tabelle 4. (Fortsetzung.)

| p _H | Verdünnungsreihe | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------------------|-----|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|
| | 1:2 | 1:5 | 1:10 | 1:15 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 |
| <i>γ-Globulin 40 mg.-%.</i> | | | | | | | | | | |
| 8,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7,5 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7,0 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| I.P. 6,5 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6,0 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5,5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 5,0 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 4,5 | 1 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 4,0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 3,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |

p_H 6,5—7,0 die günstigsten Verhältnisse vorliegen, weil hier ein Eiweißkörper überhaupt nicht fällt, ein anderer einen ausgesprochenen Konzentrationseffekt zeigt und der dritte schon sehr nahe an seinem I.P. untersucht wird. Das α-Globulin kommt zumeist nur in unbedeutender Menge im Liquor vor und kann deswegen vernachlässigt werden.

Bei hohen Eiweißkonzentrationen und schwach alkalischer Reaktion beobachteten wir noch eine Erscheinung, die von KAUSCHE und RUSKA beschrieben worden ist, die sog. *Rotfällung*. Sie trat mit β-Globulin auf und bestand in einer Fällung des Goldsols ohne Verfärbung. Es bildet sich bei diesem Typus der Fällung offenbar eine gitterartige Gold-Eiweißstruktur, in der die Goldteilchen in verhältnismäßig weitem Abstand voneinander bleiben, so daß keine Verfärbung der Flockung auftritt. Praktisch spielt dieser Effekt, der von KAUSCHE und RUSKA zur Charakterisierung des Tabakmosaikvirus benutzt und elektronenoptisch zur Darstellung gebracht wurde, in der Liquordiagnostik keine große Rolle. Er kann durch Verdünnung sofort beseitigt werden. Diese „Rotfällung“ bedingt Anomalien der Kurven (mehrzackige Bilder — Abb. 14, s. S. 366). Beim Mastixsol und beim Collargol tritt eine ähnliche Erscheinung auf.

Das *Collargol* besteht ebenfalls aus einem elektronegativen Silbersol, dessen ionische Gruppen mit den elektropositiven der Proteine reagieren. Im Gegensatz zum Goldsol ist es im stärker sauren Bereich, etwa von p_H 5,5—5,0 ab nicht stabil, sondern fällt schon in reinen Pufferlösungen. Dieses Verhalten hat das Collargol mit dem Mastixsol gemeinsam. In beiden Fällen sind aber die Ursachen verschieden und übrigens leicht aufzuklären. Das Mastix ist eine Säure mit freien COOH-Gruppen,

deren Dissoziation bei höherer H-Ionenkonzentration nach dem Massenwirkungsgesetz zurückgedrängt werden muß. Infolgedessen sinkt das ζ -Potential des Teilchens unter seinen kritischen Wert. Für das Collargol als Metallsol kann diese Deutung natürlich nicht zutreffen. Andererseits wäre es auffallend, wenn sich ein Silbersol wesentlich anders verhalten sollte als das Goldsol. Das Collargol ist aber kein reines Silbersol, sondern enthält einen Eiweißzusatz. Es ist ferner bei sehr hohen H-Ionenkonzentrationen (p_H 2,0) wieder stabil, wie sich aus den Versuchen von KASTEN ergibt. Diese breite Fällungszone des Collargols muß also durch den Proteinzusatz bei der Herstellung des Silbersols bedingt sein¹. Es liegen etwa dieselben Verhältnisse wie bei einem Goldsol mit etwas Albuminbeimengung vor. Wenn man auf Tabelle 4 das Albuminschema betrachtet und die p_H -Reihe, die einer Verdünnung von 1:80 der 57 mg-%igen Albuminlösung entspricht, in senkrechter Richtung liest, so erhält man in allen Einzelheiten das gleiche Bild wie beim Collargol. Es wird nun auch klar, warum dieses Kolloid von Eiweiß so leicht geschützt wird, wie RIEBELING zuerst gefunden hat. Weiterer Proteinzusatz, z. B. von elektrochemisch dargestellten Serumeiweißkörpern (Tabelle 4) verschmälert die Fällungszone innerhalb der p_H -Reihe besonders deutlich beim Albumin, α - und β -Globulin, so daß schließlich bei höheren Eiweißkonzentrationen nur mehr ein Flockungsbereich in der Gegend des I.P. des geprüften Proteins übrig bleibt. Beim Albumin tritt selbst am I.P. nur eine unvollkommene Fällung ein, wenn man genügende Mengen zusetzt². Das Collargol allein besteht also offenbar aus Teilchen des mehr oder weniger ausgeprägten Typus der nucleären Aggregation der Tabelle 2, die wegen der teilweisen gegenseitigen Absättigung der Ladungen einen Sensibilisierungseffekt und deswegen eine breite Fällungszone in der p_H -Reihe zeigen. Das Protein ist wie erwähnt, fabrikmäßig dem Sol zugesetzt. Nach weiterem Eiweißzusatz (Liquor, Serum usw.) entstehen immer proteinreichere Aggregate, deren elektrochemische Eigenschaften mehr und mehr von denen des zugesetzten Eiweißkörpers bestimmt werden. KASTEN und DUENSING haben schon richtig erkannt, daß das p_H des I.P. dieser Eiweißkörper für die Fällung maßgebend ist.

Diese einfachen kolloidchemischen Überlegungen machen übrigens deutlich, wie wenig treffend die übliche Formulierung über den Unterschied zwischen S.C.R. und den anderen Kolloidreaktionen ist, nämlich

¹ Rückfragen bei der Firma ergaben, daß bei der Herstellung von Collargol zur Stabilisierung des Sols, Eiweiß vom Albumin Typ zugesetzt wird.

² Aus diesen Versuchen wird übrigens deutlich, daß Aussagen über fällende oder „schützende“ Wirkung von Proteinen auf Kolloide nur Wert haben, wenn genaue Angaben über die Konzentrationsverhältnisse vorliegen, die leider in der medizinischen Literatur oft fehlen.

daß jene auf einer Schutzfunktion, diese auf einer fällenden Wirkung der zugesetzten Eiweißkörper beruhen sollte. Die Phänomene des Schutzes, der Flockung und Sensibilisierung, kommen eben bei *allen* Kolloidreaktionen vor.

Tabelle 4 zeigt nun noch folgende Einzelheiten: Abweichend vom Goldsol finden sich bei den drei Globulinen praktisch keine Konzentrationseffekte auf der alkalischen Seite des I.P. Nur auf der sauren sind sie vorhanden. Es fehlt aber natürlich der aufsteigende Kurvenschenkel, wie wir ihn beim Goldsol beobachteten, weil das Collargol allein wegen des bei der Fabrikation zugesetzten Eiweißkörpers im sauren Bereich nicht stabil ist. Zur Charakterisierung der einzelnen Eiweißkörper durch eine *Verdünnungsreihe* bei p_H 6,5—7,0 eignet sich das Collargol wegen des bei dieser Wasserstoffionenkonzentration fehlenden Konzentrationseffektes für das β -Globulin nicht. Andere p_H sind ebenso ungünstig, wie sich aus Tabelle 4 ohne weiteres ergibt. Dagegen läßt sich der isoelektrische Punkt des γ -Globulins einerseits und des Albumins und β -Globulins andererseits ungefähr schätzen, wenn man eine p_H -Reihe herstellt. Die beiden zuletzt genannten Eiweißkörper lassen sich wegen der Nähe ihrer I.P. nicht differenzieren. Auch fällt das Albumin in höheren Konzentrationen schlecht, so daß sich in Mischungen nicht entscheiden läßt, ob für eine Fällung bei p_H 4,5—5,5 eine niedere Albuminkonzentration oder eine hohe β -Globulinkonzentration verantwortlich zu machen ist. Auf die praktische Seite dieser Frage werden wir noch eingehen. p_H -Reihen mit dem Collargol können mit einer Verdünnungsreihe kombiniert werden, ohne daß sich grundsätzlich etwas ändert. *Allerdings ist die Reaktion nur dann zur ungefähren Charakterisierung der Eiweißkörper brauchbar, wenn gleichzeitig das p_H mindestens am Fällungsmaximum gemessen wird.* Das ergibt sich aus dem Gesagten ohne weiteren Zusatz. Die Messung braucht nicht sehr genau zu sein, da eine feinere Differenzierung der I.P. der einzelnen Eiweißkörper aus den dargelegten Gründen ohnedies nicht möglich ist. Lediglich die Albumin- β -Globulin-Gruppe und das γ -Globulin sind in ihren elektrochemischen Eigenschaften so verschieden, daß meist eine Unterscheidung möglich ist. Eine einfache colorimetrische Messung der Wasserstoffionenkonzentration mit Lyphanpapieren ist völlig ausreichend. Sie läßt sich in wenigen Sekunden durchführen.

Mastixsol ist ein saures (elektronegatives) Kolloid wie die beiden eben besprochenen. Die negative Ladung erhält das Mastixteilchen durch COOH -Gruppen, die in den verschiedenen Mastixsäuren enthalten sind. Diese Gruppen dissoziieren, wobei nach dem Massenwirkungsgesetz die Dissoziation bei hoher Wasserstoffionenkonzentration entsprechend niederem p_H zurückgedrängt wird. Da damit eine Verminderung der elektrischen Ladung verbunden ist, wird das Mastixsol in sauren

Tabelle 5. p_H -Reihen und Verdünnungsreihen der elektrochemisch dargestellten Eiweißkörper bei der Mastixreaktion. Ionenstärke in sämtlichen Röhrchen vor Zugabe des Sols 0,165 (Citratpuffer). (Die Stärke der Reaktion in arabischen statt römischen Ziffern bezeichnet.)

| p_H | Verdünnungsreihe | | | | | | | | | | |
|---|------------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|
| | 1:1 | 3:4 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:250 | 1:500 |
| <i>Albumin 700 mg-%.</i> | | | | | | | | | | | |
| 8,0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7,5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7,0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 6,5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 6,0 | 1 | 1 | 3 | 5 | 7 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 5,5 | 1 | 2 | 12 | 12 | 12 | 8 | 7 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| I.P. 5,0 | 10 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 4,5 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 4,0 | 8 | 8 | 9 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 3,5 | 8 | 9 | 9 | 10 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 3,0 | 7 | 8 | 9 | 8 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| <i>α-Globulin 378 mg-%.</i> | | | | | | | | | | | |
| 8,0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7,5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7,0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 6,5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 6,0 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 5,5 | 1 | 3 | 4 | 10 | 6 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| I.P. 5,0 | 2 | 7 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 4,5 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 4,0 | 11 | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 3,5 | 10 | 10 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 3,0 | 8 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| <i>β-Globulin 100 mg-%.</i> | | | | | | | | | | | |
| 8,0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7,5 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 5 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7,0 | 2 | 3 | 6 | 9 | 10 | 11 | 8 | 6 | 3 | 1 | 1 |
| 6,5 | 3 | 5 | 7 | 10 | 11 | 11 | 9 | 7 | 3 | 1 | 1 |
| 6,0 | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 | 12 | 12 | 9 | 4 | 1 | 1 |
| 5,5 | 9 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 8 | 6 | 4 |
| I.P. 5,0 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 4,5 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 4,0 | 5 | 5 | 7 | 7 | 8 | 10 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 3,5 | 4 | 4 | 6 | 6 | 7 | 8 | 10 | 10 | 11 | 12 | 12 |
| 3,0 | 3 | 3 | 5 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 12 | 12 |

Tabelle 5. (Fortsetzung.)

| p_H | Verdünnungsreihe | | | | | | | | | | |
|------------------------------|------------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|
| | 1:1 | 3:4 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:250 | 1:500 |
| γ -Globulin 500 mg-%. | | | | | | | | | | | |
| 8,0 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 | 7 | 6 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 7,5 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 | 7 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 7,0 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 | 7 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| I.P. 6,5 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 | 7 | 6 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| 6,0 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 | 10 | 7 | 5 | 3 | 2 | 1 |
| 5,5 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 | 10 | 7 | 5 | 3 | 2 | 1 |
| 5,0 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 4,5 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 4,0 | 10 | 10 | 10 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 3,5 | 7 | 8 | 9 | 10 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 3,0 | 7 | 7 | 7 | 8 | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |

Lösungen unstabil und flockt. Die-COOH-Gruppen des Mastix reagieren mit den NH_2 -Gruppen der Eiweißkörper und bilden so den Mastix-Eiweißkomplex.

Setzt man wieder p_H - und Verdünnungsreihen bei konstanter Ionenstärke an, so ergeben sich Befunde, wie sie in Tabelle 5 zusammengestellt sind. Auch hier liegen wieder die Fällungsmaxima der vier Eiweißkörper am I.P.

Wie beim Collargol zeigt das Albumin in hohen Konzentrationen an dieser Stelle noch eine gewisse Schutzwirkung, da die Ausfällung nur bis zur Stärke 10 erfolgt. Ähnlich verhält sich das α -Globulin. Sehr deutlich sind die Konzentrationseffekte beim Albumin, α -Globulin und beim β -Globulin auf der alkalischen Seite des I.P. Im Gegensatz zum Collargol läßt sich das Mastixsol bei niederen p_H -Werten durch Eiweiß — wie schon erwähnt — nur sehr schlecht schützen, so daß hier auch mit hohen Proteinkonzentrationen schon Trübungen bzw. Flockungen entstehen. Dies liegt an der Eigenart des stark acidoiden Mastixsols, dessen kritisches Potential bei hoher H-Ionenkonzentration leicht erreicht wird, stellt aber nur eine quantitative, nicht grundsätzliche Abweichung vom Verhalten des Goldsols dar. Das Mastix ist deswegen zur Schätzung der I.P. von Eiweißkörpern durch p_H -Reihen naturgemäß nicht geeignet. Wegen des sehr deutlich ausgeprägten Konzentrationseffektes auf der alkalischen Seite des I.P. muß sich die Reaktion aber ausgezeichnet bewähren, wenn man die einzelnen Proteine durch Verdünnungsreihen charakterisieren will. Am geeignetsten ist hierfür ein p_H von 7,0, wie sich aus Tabelle 5 ergibt. Wiederum fallen Albumin und α -Globulin

bei dieser Wasserstoffionenkonzentration in keiner Verdünnung, das β -Globulin zeigt einen ausgeprägten Konzentrationseffekt, das γ -Globulin flockt sehr stark. In der vorigen Mitteilung wurde das Verhalten von Eiweißkörpermischungen eingehend beschrieben. Es sei an dieser Stelle auf das dort Gesagte verwiesen.

d) Vergleich der Kolloidreaktionen in der praktischen Anwendung.

In der Einleitung wurde schon darauf hingewiesen, daß der praktische Wert einer Kolloid-Eiweißreaktion danach eingeschätzt werden muß, wieweit sich aus ihrem Ausfall ein Rückschluß auf die Zusammensetzung des untersuchten Eiweißkörpergemisches machen läßt. Die erste Forderung, die an eine solche Reaktion gestellt werden sollte, muß daher sein, daß sie kolloidchemisch richtig und übersichtlich aufgebaut ist und reproduzierbare Ergebnisse liefert. Diese Forderung ist bei der *Normomastixreaktion* nicht erfüllt, wie in der vorigen Mitteilung eingehend gezeigt werden konnte. Die *modifizierte Mastixreaktion* (m.M.R.) ist dagegen von den hier bearbeiteten Kolloidreaktionen kolloidchemisch am besten fundiert, da der Versuch in den einzelnen Röhrchen unter den gleichen Bedingungen ausgeführt wird. In übersichtlicher Weise werden die Eigenschaften des Albumins und der beiden Globuline zur Diagnosestellung verwandt. Die Ergebnisse sind streng reproduzierbar, während z. B. Normomastixreaktionen mit frischen und aufbewahrten Liquores verschieden ausfallen können, weil das p_H in aufbewahrten Rückenmarkslüssigkeiten zu steigen pflegt. *Die Normomastixreaktion und die gewöhnliche Mastixreaktion, bei der ganz ähnliche Verhältnisse vorliegen, sind also in der Praxis nicht brauchbar und sollten aus dem Rüstzeug der Liquordiagnostik gestrichen werden.* — Die *Goldsolreaktion* ist auf dem gleichen Prinzip aufgebaut wie die modifizierte Mastixreaktion, nämlich auf dem Prinzip der Verdünnungsreihe bei konstantem p_H und konstanter Ionenstärke. Bei einem p_H von 6,5—7,5 fällt das Albumin in allen Verdünnungen nicht, das γ -Globulin in höheren Konzentrationen sehr stark, das β -Globulin zeigt den auf Sensibilisierung beruhenden Konzentrationseffekt, der wieder für seine Identifizierung ausgenutzt wird. Es sind daher ganz ähnliche Kurventypen zu erwarten wie bei der m.M.R. Das ergibt sich dann auch aus den Abbildungen. Der bei der Normomastixreaktion das Reaktionsbild verwischende p_H -Effekt (ungleiches p_H neben ungleicher Ionenstärke in den einzelnen Röhrchen) tritt beim Goldsol deswegen nur wenig störend in Erscheinung, weil die Verdünnung im ersten Röhrchen schon verhältnismäßig hoch ist, so daß die Pufferkapazität der zugesetzten Liquormenge nur sehr gering ist und diese das p_H deswegen nur wenig beeinflusst. Der sog. Vorversuch muß aber aus den eben schon auseinandergesetzten Gründen abgelehnt werden, da sonst die mit verschiedenen Solen angestellten Reaktionen unter-

einander nicht streng vergleichbar sind. Auch sollte bei jeder neuen Serie das p_H des Reaktionsgemisches, das zwischen 6,5 und 7,5 liegen muß, kontrolliert werden, wozu Lyphanpapiere völlig ausreichen, da die Goldsolreaktion im Gegensatz zur Mastixreaktion nicht besonders p_H -empfindlich ist. Durch Dialyse des Liquors und Vorgehen wie bei der m.M.R. werden alle derartigen möglichen Fehler mit Sicherheit ausgeschaltet. Ein Nachteil der Goldsolreaktion ist die schwierige Reproduzierbarkeit der Sole selbst trotz aller gegenteiligen Behauptungen, auch dann, wenn die Versuchsbedingungen so genau konstant gehalten

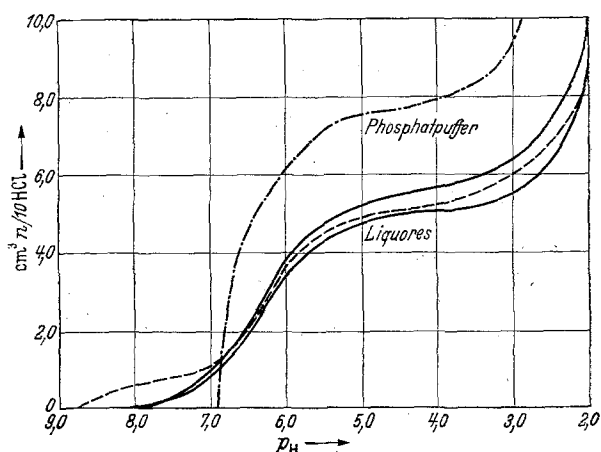


Abb. 1. Pufferungskurven zweier Liquores unmittelbar nach der Entnahme aufgenommen (—), eines 4 Tage aufbewahrten Liquors (---) und eines Phosphatpuffers einer Ionenstärke von 0,165 und einem p_H von 6,9 (---).

werden, wie dies bei Bereitung des Goldsols durch uns der Fall war. Vielleicht ließe sich aber gerade dieser schwache Punkt der Goldsolreaktion durch Verwendung entweder fabrikmäßiger oder leichter reproduzierbarer Sole überwinden. KAUSCHE und RUSKA verwandten z. B. ein käufliches Präparat der Firma Imhausen & Co., Witten/R. mit einer Teilchengröße von etwa $30 m\mu$ im Mittel und einer Teilchenzahl von $4 \cdot 10^{14}$ Teilchen im Liter. PAULI und Mitarbeiter stellten ein Sol durch Kathodenzerstäubung dar; HERMANN verwendet mit Erfolg das nach FOWWEATHER auf photo-chemischem Wege erhaltene Goldsol.

Wie schon erwähnt, ergeben die m.M.R. und die Goldsolreaktion, zumal dann, wenn sie mit dialysiertem Liquor ausgeführt wurden, ähnliche Kurven (Abb. 3, 4, 5, 7). Geringfügige Differenzen sind durch die verschiedene Empfindlichkeit der beiden Kolloide gegen die beiden Globuline bedingt. Das Goldsol verfärbt sich besonders leicht mit sehr geringen Mengen γ -Globulin, so daß selbst bei vorwiegend albuminösen Liquoren niedriger Gesamteiweißkonzentration meist schon eine bis

rotviolett gehende Zacke zu beobachten ist. Der normale Liquor zeigt z. B. oft diese Zacke (Abb. 13). Vorwiegend albuminöse Liquores kommen überhaupt wegen dieser beschriebenen großen Empfindlichkeit nicht

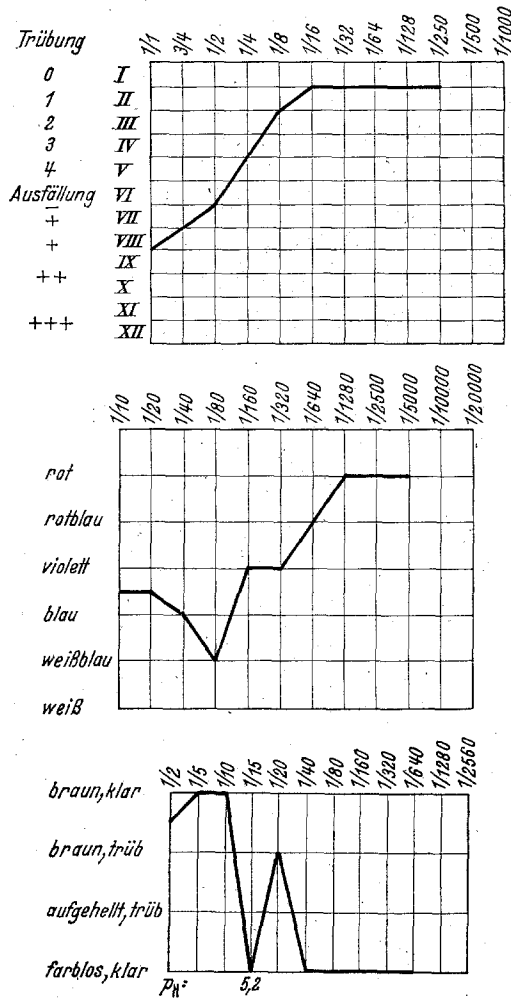


Abb. 2. Nr. 1936. — Diagnose: Restzustand nach Poliomyelitis. Zellzahl: 12/3. Gesamteiweiß 37 mg-%. Nach der m.M.R. (oben) und der Goldsolreaktion (Mitte) seröses Exsudat. Der I.P. der Hauptkomponente der Globuline liegt nach der Salzsäurecollargolreaktion (unten) bei 5,2, entsprechend dem β -Globulin.

so klar heraus wie bei der m.M.R. Andererseits kann aus dem gleichen Grunde bei einem serösen Exsudat mit relativ viel γ -Globulingehalt die Schutzwirkung des β -Globulins in hohen Konzentrationen nicht in Erscheinung treten, so daß eine tiefe Linkskurve entsteht. Auf Abb. 8 und 9 ist dies zu sehen. Die durch den β -Globulingehalt bedingte

Rechtsverschiebung der Kurve kommt in der Goldsolreaktion bei niederen Gesamteiweißkonzentrationen oft besser heraus als bei der m.M.R. (Abb. 2). Auf die Erscheinung der *Rotfällung* (Abb. 14) sind

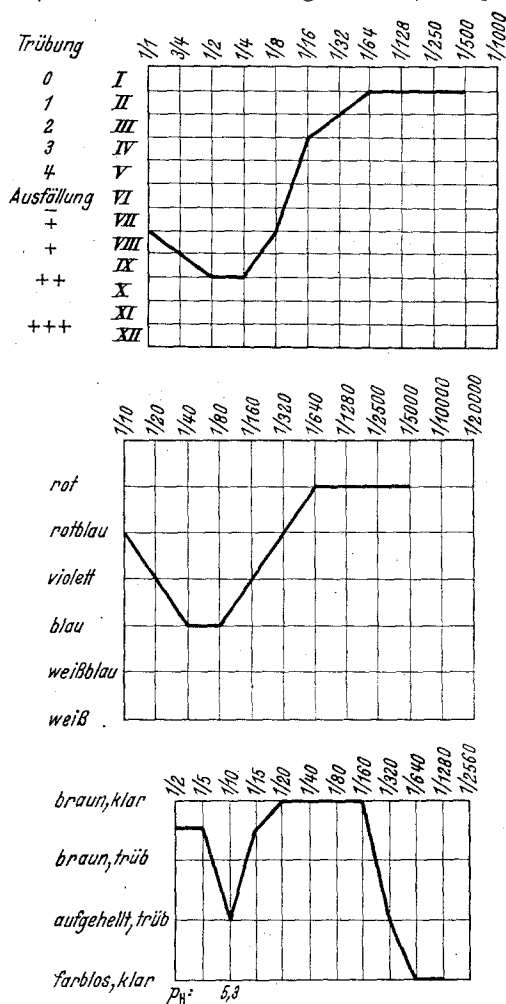


Abb. 3. Nr. 1924. — Diagnose: Kraniopharyngeom. Zellzahl 0/3, Gesamteiweiß 77 mg %. Nach der m.M.R. (oben) und der Goldsolreaktion (Mitte) seröses Exsudat. Der I.P. der Hauptkomponente der Globuline liegt nach der Salzsäurecollargolreaktion (unten) bei 5,3 entsprechend dem β -Globulin.

wir oben schon eingegangen. Zusammengefaßt läßt sich feststellen: Die Goldsolreaktion ist wegen ihrer Empfindlichkeit bei niederen Proteinkonzentrationen der m.M.R. mitunter überlegen, sie verzerrt aber manchmal aus den gleichen Gründen den Sachverhalt, besonders bei höheren Eiweißkonzentrationen. Sie hat vor der m.M.R. den Vorteil,

daß man mit undialysiertem Liquor arbeiten kann, ohne einen allzu großen Fehler zu begehen. Ein Nachteil ist aber die schwierige Reproduzierbarkeit der einzelnen Goldsole.

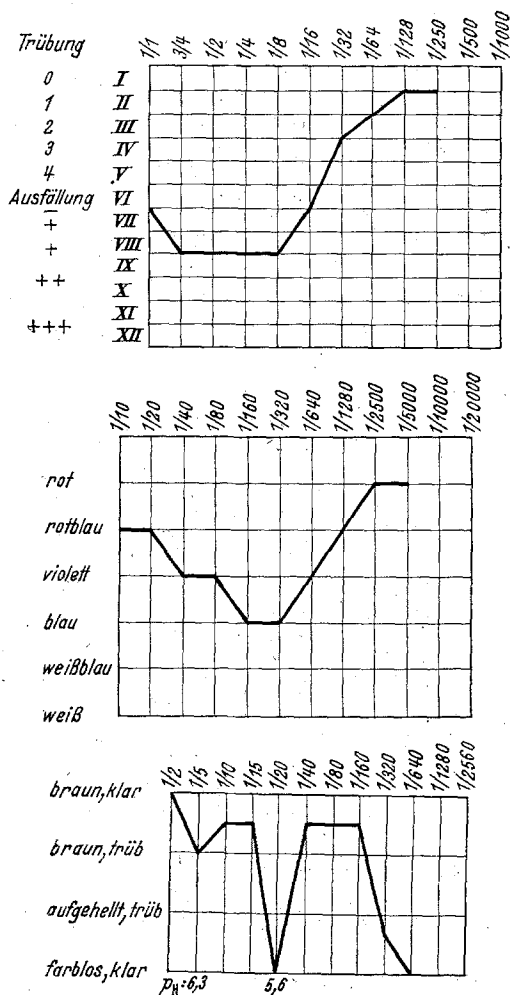


Abb. 4. Nr. 2175. — Diagnose: Polyneuritis nach Wundeiterung. Zellzahl 21/3. Gesamteiweiß 3,9 Teilstrieche (nach KAFKA). Nach der m.M.R. (oben) und der Goldsolreaktion (Mitte) seröses Exsudat. Der I.P. der Hauptkomponente der Globuline liegt nach der Salzsäurecollargolreaktion (unten) bei 5,6, entsprechend dem β -Globulin. Eine schwache Fällzone bei 6,3 entspricht dem γ -Globulin.

Wesentlich weniger günstig bezüglich der kolloid-chemischen Übersichtlichkeit als bei der m.M.R. und der Goldsolreaktion liegen die Dinge bei der S.C.R. von RIEBELING. Das Wesen dieser Reaktion beruht, wie erwähnt auf der Fällung des Collargol-Eiweißkomplexes in der Nähe des I.P. des untersuchten Proteins (Tabelle 4). Bei Eiweißkörpermischungen

hängt es von verschiedenen Bedingungen ab, welche Komponente oder welche Komponenten gefällt werden. Im allgemeinen bestimmt das quantitativ am stärksten vertretene Globulin die Fällungszone, d. h. bei

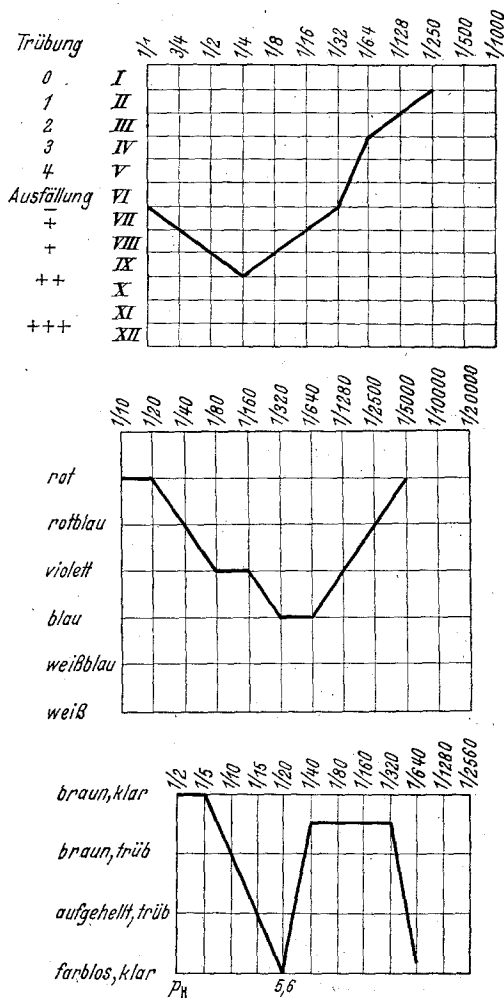


Abb. 5. Nr. 2215. — Diagnose: Polyrneuritis nach Wundeiterung. Zellzahl 0/3, Gesamteiweiß 7,0 Teilstiche (nach KAFKA). Nach der m.m.r. (oben) und der Goldsolreaktion (Mitte) seröses Exsudat. Der I.P. der Hauptkomponente der Globuline liegt nach der Salzsäurecollargolreaktion (unten) bei 5,6, entsprechend dem β -Globulin.

einem serösen Trans- bzw. Exsudat liegt diese in der Nähe des I.P. des β -Globulins, bei einem γ -globulinösen am I.P. des γ -Globulins (Abb. 2–7). Die Wirkung des Albumins wird durch Kombination der p_H -Reihe mit einer Verdünnungsreihe weitgehend ausgeschaltet. Am I.P. des Albumins, d. h. bei p_H 4,5 ist die Gesamteiweißkonzentration fast

durchweg schon so weit gesunken, daß dieser Eiweißkörper meist keine eigene Fällungszone mehr hervorruft. Immerhin sind Ausnahmen denkbar, was der Übersichtlichkeit der Reaktion nicht förderlich ist.

Die Möglichkeit, den I.P. der hauptsächlich vertretenen Globulinkomponente, wenn auch nur grob und genähert zu schätzen, verleiht der S.C.R. einen gewissen Wert bei der Diagnosestellung des Ex- bzw. Transsudattypus, den der untersuchte Liquor darstellt und der klinische

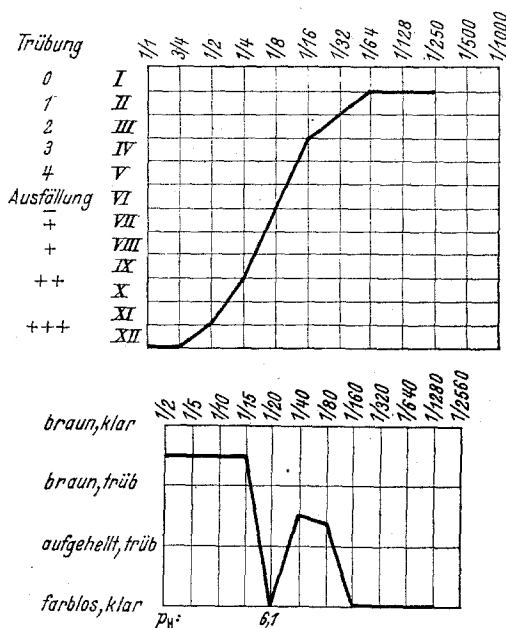


Abb. 6. Nr. 1770. — Diagnose: Multiple Sklerose — Zellzahl 200/3, Gesamteiweiß 67 mg %. Nach der m.M.R. γ -globulinöses Exsudat. Bei der Salzsäurecollargolreaktion (Liquor undialysiert) Fällungsmaximum bei p_H 6,1, entsprechend dem I.P. des γ -Globulins.

Rückschlüsse erlaubt. Die Messung des p_H der Fällungszonen ist hierzu natürlich notwendige Voraussetzung. Dies ist sogar der wesentlichste Punkt der ganzen Reaktion. Der Kurventypus wird dagegen meist von so vielen unwesentlichen und sekundären Faktoren mitbestimmt, daß ihm keine primäre Bedeutung zukommt. *Ganz abwegig ist es daher, diese Kurven unmittelbar mit klinischen Daten in Beziehung zu setzen, wie dies allgemein geschehen ist.* Auch hier muß die physikalisch-chemische Analyse den Primat haben, wenn man folgenschwere Fehlschlüsse vermeiden will.

Von wesentlichem Einfluß auf die Kurvenform bei der S.C.R. in der Originaltechnik ist zunächst die Pufferung des Liquors, wie zuerst DUENSING und KASTEIN richtig erkannt haben. Diese Pufferung verteilt sich auf zwei Anteile, nämlich den der niedermolekularen

Substanzen und auf den der Eiweißkörper. Bei mäßigen (bis 200 mg %) Eiweißkonzentrationen ist dieser letzte Anteil verhältnismäßig gering. Man kann das Pufferungsvermögen durch die sog. *Pufferungskurve*

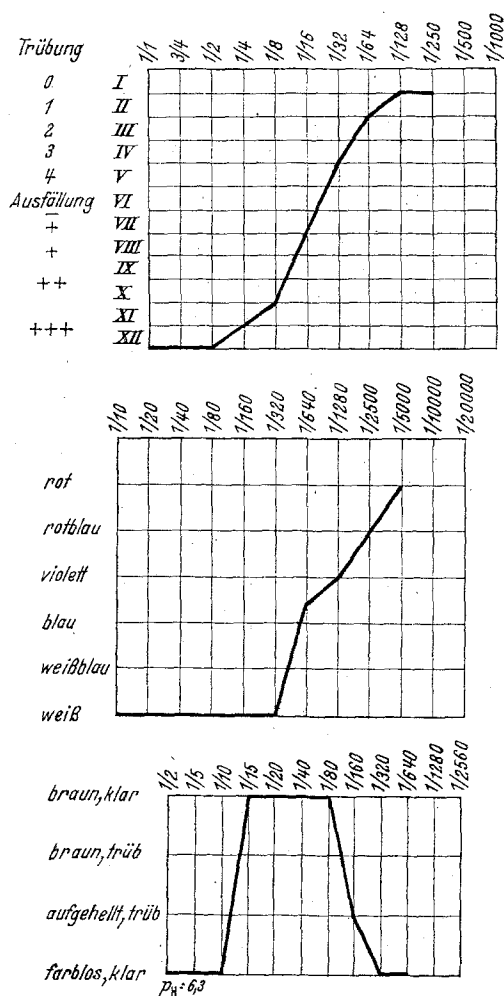


Abb. 7. Nr. 1952. — Diagnose: Progressive Paralyse. Zellzahl 2/3, Gesamteiweiß 77 mg %. Nach der m.M.R. (oben) und der Goldsolreaktion (Mitte) γ -globulinöses Exsudat. Der I.P. der Hauptkomponente der Globuline liegt nach der Salzsäurecollargolreaktion (unten) bei 6,3, entsprechend dem γ -Globulin.

(Abb. 1) genau charakterisieren, die sich ergibt, wenn das p_H als Funktion der zugesetzten Säuremenge aufgetragen wird. In Abb. 1 sind die Pufferungskurven mehrerer frischer und einige Tage lang aufbewahrter Liquores dargestellt. Zunächst zeigt sich, daß das Ausgangs- p_H nicht bei jeder S.C.R. identisch ist, da frische Liquoren saurer

reagieren als alte. In den ersten Röhren sind also die Wasserstoffionenkonzentrationen von Reaktion zu Reaktion verschieden, wovon

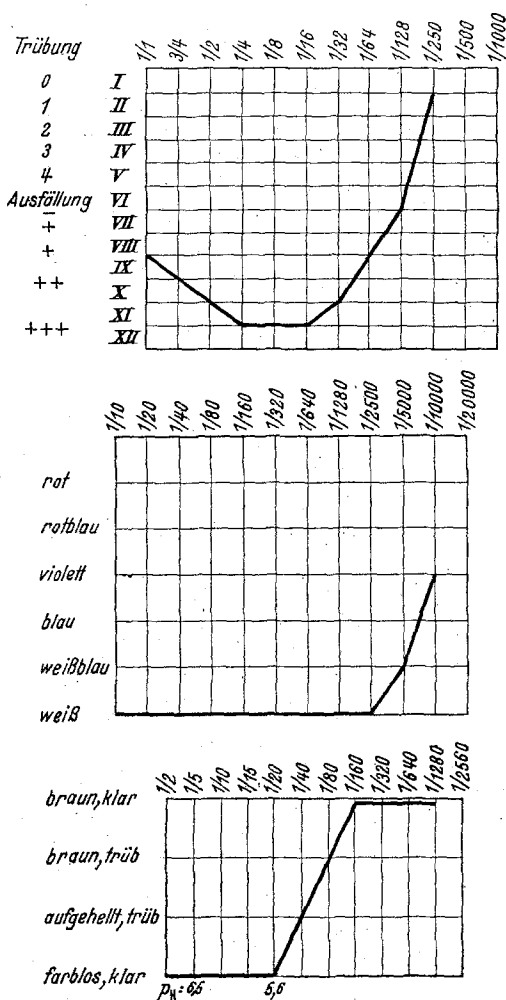


Abb. 8. Nr. 1860. — Diagnose: Chronische produktive Meningitis. Zellzahl 288/3 (Lymphocyten), Gesamteiweiß 390 mg %, Zucker 30 mg %. Nach der m.M.R. (oben) ist das Exsudat serös mit relativ hohem γ -Globulingehalt. In der Goldsolreaktion (Mitte) kommt die Schutzwirkung des β -Globulins in hohen Konzentrationen gegen die fallende des γ -Globulins nicht auf, so daß das Bild eines γ -globulinösen Exsudates entsteht. In der Salzsäurecollargolreaktion (unten) bildet sich eine breite Fällzone über mehrere p_H -Einheiten, entsprechend dem β - und γ -Globulin. Endgültige Beurteilung: Seröses Exsudat mit Betonung des γ -Globulins.

man sich übrigens auch durch direkte Messungen überzeugen kann. Dann decken sich die Pufferungskurven weitgehend in einem p_H -Bereich von etwa 7,5—5,5. Hier puffert der Liquor stark, d. h. 1 ccm n/10 HCl

verändert das p_H nur um etwa eine halbe bis höchstens eine ganze Einheit. Das ist in dem p_H -Bereich von 5,0—3,5 anders. Hier liegen die

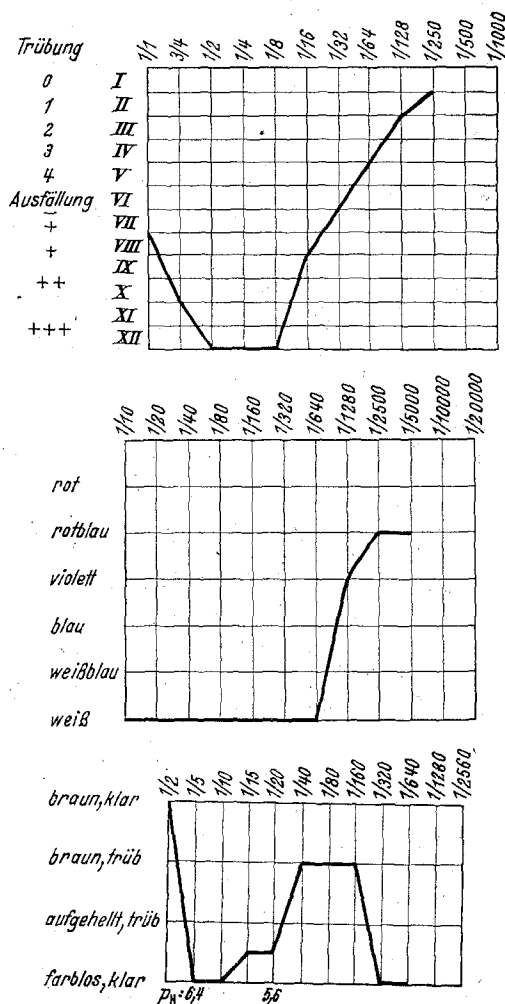


Abb. 9. Nr. 2218. — Diagnose: Lues cerebri. Zellzahl 103/3. Gesamteiweiß 2,9 Teilstiche (nach KAFKA). Nach der m.M.R. (oben) ist das Exsudat serös mit relativ hohem γ -Globulingehalt, da die Kurve bis XII heruntergeht. In der Goldsolreaktion (Mitte) kommt die Schutzwirkung des β -Globulins nicht heraus. In der Salzsäurecollargolreaktion entsteht eine Fällzone zwischen p_H 6,4 — 5,6 entsprechend dem β - und dem γ -Globulin. Endgültige Beurteilung: Seröses Exsudat mit relativ großem γ -Globulingehalt.

Pufferungskurven flach und decken sich bei den verschiedenen Liquores weniger gut. Geringer Säurezusatz kann die Wasserstoffionenkonzentration um mehrere Zehnerpotenzen ändern. Das würde aber bedeuten, daß derartige geringe Abweichungen der Pufferungskurve oder kleine

DUENSING hingewiesen. Sie sind natürlich von erheblichen Einfluß auf den Kurvenverlauf der S.C.R. Bei gleicher Proteinzusammensetzung eines Liquors können auf diese Weise *verschiedene* Kurvenbilder der S.C.R. entstehen. Weiter kann aus den dargelegten Gründen das p_H an dieser Stelle auch einmal über mehrere Einheiten „springen“, was dann dazu führt, daß der I.P. eines in der Mischung vorhandenen Eiweißkörpers einfach übersprungen wird und daß es aus diesem Grunde zu keiner

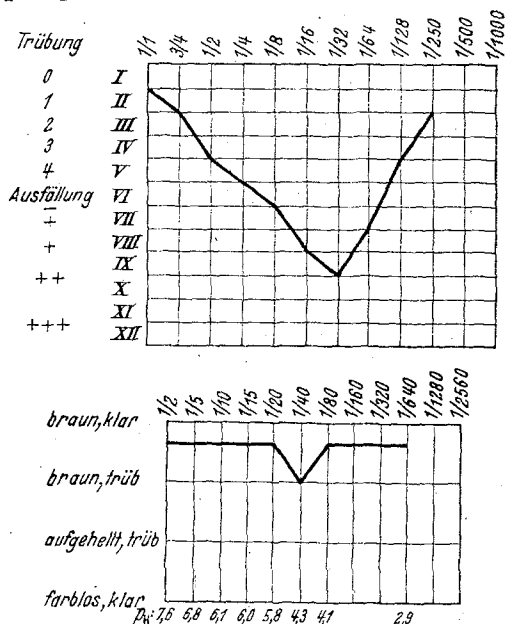


Abb. 11. Nr. 1818. — Diagnose: Stopsyndrom. Zellzahl 14/3, Gesamteiweiß 14,0 Teilstriche (nach KAFKA). Nach der m.M.R. (oben) seröses Exsudat. Bei der Salzsäurecollargolreaktion (Liquor nicht dialysiert) sehr „verlängerte Schutzzone“, bedingt durch den hohen Eiweißgehalt. Eine geringe Fällzone findet sich bei p_H 4,3. Genaue Messung der Wasserstoffionenkonzentration ergibt einen Sprung von p_H 5,8—4,3 bei den Verdünnungen 1:20 und 1:40. Der I.P. des β -Globulins wurde also übersprungen, bei etwa p_H 5,0—5,4 wäre das Maximum der Ausfällung zu erwarten gewesen.

oder nur zu einer unvollkommenen Fällung kommt. Abb. 11 zeigt diese Verhältnisse. Hier springt das p_H im 5. zum 6. Röhrchen von 5,8—4,3. Der I.P. des β -Globulins liegt zwischen diesen Werten. Bei dem eindeutig serösen Exsudat kommt es deswegen zu keiner Fällung. Unter Umständen kann die gleiche Erscheinung zu einer fehlerhaften Schätzung des I.P. der hauptsächlichen Globulinkomponente führen, wie Abb. 12 ergibt. Auch hier wird der I.P. des β -Globulins übersprungen, da das p_H im dritten Röhrchen von 6,3 auf 4,8 im vierten absinkt. Hätte man die dazwischenliegenden Stufen der Wasserstoffionenkonzentration, so wäre es hier sicher auch zu einer Ausfällung gekommen, d. h. es wäre eine breitere Fällzone entstanden, in deren Mitte ungefähr der I.P. des

β -Globulins gelegen wäre. Diese „Zufälligkeit“, das für eine Fällzone richtige p_H zu erzielen, ruft noch andere Unstimmigkeiten hervor. Abb. 10 zeigt ein γ -globulinöses Exsudat bei einem Fall von einheimischer Panencephalitis. Bei der S.C.R. ergibt sich eine sog. „Normalkurve“ mit Beginn der Fällung im 4. Röhrchen. Messung des p_H zeigt, daß dieses Röhrchen ein p_H von 6,6 besitzt, während sonst bei derartigen Kurven die Fällung erst bei einem p_H von $4,8 \pm 0,2$ beginnt. Der

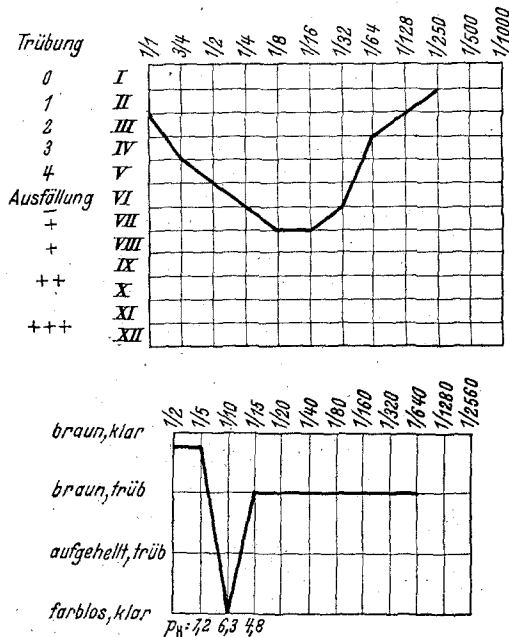


Abb. 12. Nr. 1795. — Diagnose: Eitrige Meningitis bei traumatischem Hirnabszeß. Zellzahl 1600/3, Gesamteiweiß 324 mg %. Nach der m.M.R. (oben) Exsudat serös. Bei der Salzsäurecollargolreaktion (Liquor nicht dialysiert) Fällungsmaximum bei p_H 6,3. Das nächste Röhrchen zeigt schon ein p_H von 4,8. Der I.P. des β -Globulins ist also übersprungen worden.

Liquor hatte also aus ungeklärten Gründen eine verhältnismäßig hohe Pufferkapazität, so daß bei einer Verdünnung 1:15 erst ein p_H von 6,6 erreicht war. Hier fällt das γ -Globulin. Da der Eiweißgehalt zu niedrig war, konnte es in noch höheren Verdünnungen nicht mehr zur Ausbildung einer zweiten Schutzzone kommen. Der Fall zeigt übrigens eindringlich die Wichtigkeit von p_H -Messungen¹. Verbunden mit diesen

¹ Die Abneigung, die viele medizinische Arbeiten gegen Messungen haben, während sie für den Physikochemiker natürlich selbstverständlich sind, erklärt sich psychologisch aus der vorwiegend qualitativen Denkweise des Mediziners. In den Arbeiten über die S.C.R. werden zum Teil über ein Dutzend (!) Kurventypen unterschieden und mit klinischen Diagnosen in Beziehung gesetzt, ohne daß das p_H gemessen worden wäre. Es liegt auf der Hand, daß sich auf diese Weise ganz unübersichtliche Verhältnisse ergeben, die dem an klare Versuchsbedingungen gewöhnten Naturwissenschaftler unverständlich erscheinen müssen.

Messungen ist die Kurve eben *nicht* als „normal“ zu bezeichnen. Endlich lehrt Abb. 13, daß Fällungszonen auftreten können, wenn die m.M.R. ein vorwiegend albuminöses Transsudat ergibt und die Goldsolreaktion

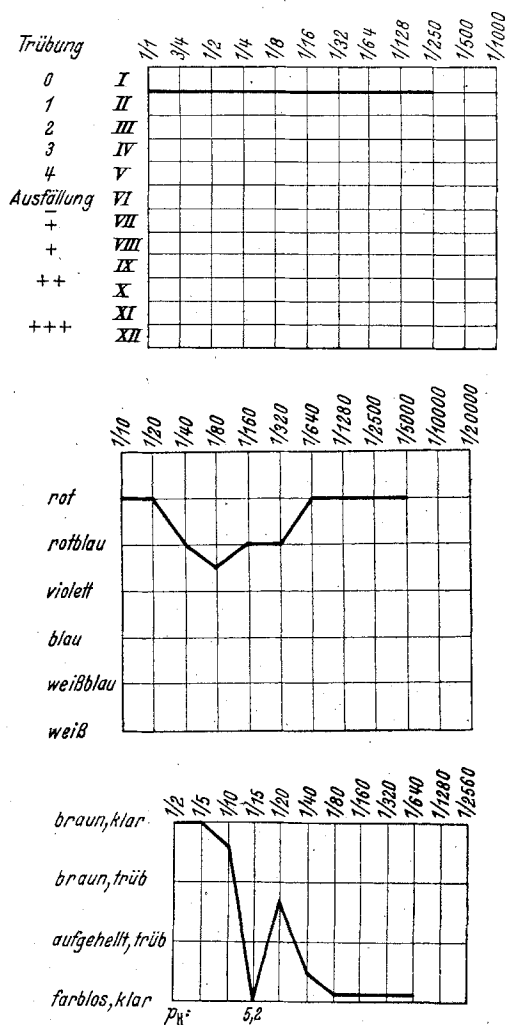


Abb. 13. Nr. 2037. — Diagnose: Inhalt eines subduralen Hygroms. Liquor dialysiert. Zellzahl 0/3, Gesamteiweiß 24 mg %. Erklärung im Text.

auf die in der Mischung vorhandenen Globuline wegen ihrer größeren Empfindlichkeit geringfügig anspringt. Es handelt sich um die klare Flüssigkeit eines traumatisch entstandenen subduralen Hygroms. Die S.C.R.-Kurve würde man bei der üblichen Beurteilung als „pathologisch“ bezeichnen. Hierzu käme noch das klinische Argument, nämlich, daß es sich um eine liquorähnliche, pathologische Flüssigkeit handelt, und man

Da die Kurvenform bei der S.C.R. nach dem Gesagten sehr weitgehend von der Pufferung des Liquors abhängt, liegt es nahe, diese störende Variable auszuschalten. KASTEIN hat vorgeschlagen, die Liquorverdünnungen mit Pufferlösungen vorzunehmen. Man könnte also z. B. die oben angegebenen Citratpuffer verwenden, was zugleich den Vorteil hätte, daß die Ionenstärke in allen Röhrchen gleich wird. Indessen haben Versuche ergeben, daß die Erzielung von genau definierten p_H -Stufen durch Puffer deswegen schwer möglich ist, weil sich das p_H der Pufferlösungen nach Zugabe von Liquor und Collargol in kaum kontrollierbarer Weise ändert, da die Pufferwirkung der Lösungen in den zulässigen Konzentrationen verhältnismäßig gering ist. Zweckmäßiger scheint es uns zu sein, von *dialysierten* Liquoren auszugehen und wie bei der Originalmethode mit $n/500$ HCl zu verdünnen. Wird z. B. gegen einen Phosphatpuffer eine Ionenstärke von 0,165 und einem p_H von $7,0 \pm 0,5$ dialysiert, so entstehen beim Verdünnen mit HCl meist etwa die gleichen p_H -Stufen, weil die Pufferungskurve bei nicht zu hohem Eiweißgehalt immer die des Phosphatpuffers (Abb. 1) ist. Die Pufferungskurve des Phosphatpuffers verläuft zudem günstiger als die der Liquoren. Zwar liegt auch ihr Wendepunkt etwa bei p_H 5,0, sie liegt hier jedoch weniger flach und verläuft nur ein kurzes Stück in horizontaler Richtung. Daß bei diesem Vorgehen wie bei der Originalmethode in den einzelnen Röhrchen nicht die gleiche Ionenstärke herrscht, ist kein allzu großer Nachteil. Die Stärke der Fällung eines Collargol-Eiweißkomplexes hängt zwar von der Ionenstärke der Lösung ab, bei der S.C.R. kommt es aber weniger auf die Stärke der Fällung als auf das p_H an, bei dem die Fällung erfolgt. Die Abhängigkeit des I.P. von der Ionenstärke ist unter den vorliegenden Versuchsbedingungen übrigens zu vernachlässigen. Zusammengefaßt ist also festzustellen, daß es wesentlich schwerer ist, gleichstufige p_H -Reihen als Versuchsreihen anzufertigen.

Die Kurvenform der S.C.R. wird noch durch andere Momente beeinflusst, nämlich durch die Eiweißkonzentration und durch die Art der untersuchten Proteine. Das γ -Globulin bewirkt eine verhältnismäßig breite Fällungszone, wie ein Blick auf Tabelle 4 zeigt, vorausgesetzt natürlich, daß die p_H -Stufen gleichmäßig sind. Beim β -Globulin ist die Fällungszone viel schmaler, sie wird jedoch breiter bei niedrigerer β -Globulinkonzentration, wie sich wiederum aus Tabelle 4 ergibt. Die Lage des I.P. verschiebt sich dann ebenfalls etwas.

Zusammenfassend läßt sich also über die S.C.R. sagen: Die Reaktion ist für die Bestimmung des Ex- bzw. Transsudattypus in einem pathologischen Liquor von Wert, weil die Globulinhauptkomponente an ihrem I.P. gefällt wird. Bei vorwiegend γ -globulinöser Zusammensetzung des Liquors liegt die entsprechende Fällzone in der Nähe von p_H 6,1—6,7, bei seröser fällt das β -Globulin etwa in der Gegend von p_H 5,6—4,8.

Die Kurvenform hat nur einen sehr geringen diagnostischen Wert, weil sie von mehreren Bedingungen abhängt, die nichts mit der Proteinzusammensetzung des Liquors zu tun haben. Der Wert der S.C.R. wird eingeschränkt durch die Tatsache, daß isoelektrische Punkte beim Verdünnen „übersprungen“ werden können. Ferner kommt es aus dem gleichen Grunde vor, daß die Lage des I.P. fehlerhaft wird. Öfter, aber keineswegs immer, lassen sich diese Fehler vermeiden, wenn man von dialysierten Liquoren, deren Zusammensetzung bezüglich der niedermolekularen Substanzen immer die gleiche ist, ausgeht.

Die Versuche und Überlegungen der IV. und dieser Mitteilung haben es, wie wir hoffen können, deutlich gemacht, daß sich weitgehende Aussagen über die Zusammensetzung der Eiweißkörper in pathologischen Liquoren mit Hilfe der Kolloidreaktion machen lassen. Damit ist der Mechanismus dieser Reaktionen in den Grundzügen jedenfalls und in erster Näherung aufgeklärt. Naturgemäß bleibt noch manches Problem offen und viel Arbeit zu tun übrig. Insbesondere wird voraussichtlich ein eingehenderes Studium der Serumeiweißkörper Modifikationen der hier vorgetragenen Ansichten mit sich bringen. Es ist z. B. gelungen, Serumglobuline auf elektrophoretischem Wege noch in weitere wohldefinierte Fraktionen aufzuteilen.

Unsere Ergebnisse werden voraussichtlich eine *Umstellung der praktischen Liquordiagnostik* zur Folge haben. Man wird künftig die Bedingungen, unter denen Kolloidreaktionen angestellt werden, so übersichtlich wie möglich halten. Es muß zu einer Fehlentwicklung kommen, wenn der Gesichtspunkt der Schnelligkeit und technischen Einfachheit so in den Vordergrund gerückt wird wie heute. Es ist ferner ein Irrtum, wenn man mit einer klinisch-diagnostischen Reaktion die verschiedensten Stoffe zugleich untersuchen zu können glaubt. Die Kolloidreaktionen sind Untersuchungsmittel für die hochmolekularen Substanzen, d. h. für die Liquoreiweißkörper. Aus diesem Grunde ist es wichtig, diese Substanzen so rein wie möglich zur Untersuchung zu bringen, d. h. die niedermolekularen Stoffe des Liquors zu entfernen bzw. durch Salzlösungen immer der gleichen Zusammensetzung zu ersetzen. *Die Mikrodialyse ist für dieses Ziel die Methode der Wahl.* Sie läßt sich ohne wesentliche Schwierigkeiten auch in Reihenversuchen durchführen, sie erlaubt übrigens ferner eine exakte Eiweißbestimmung auf refraktometrischer Grundlage sowie eine Schätzung der Menge der vorhandenen niedermolekularen Substanzen. Die Technik¹ wurde von uns nach allen nur möglichen Gesichtspunkten durchgearbeitet und in der II. Mitteilung eingehend beschrieben.

Unsere Ergebnisse werden dann aber auch eine andere *klinische Bewertung der Kolloidreaktionen* mit sich bringen. Man wird sich nicht mehr

¹ Das Dialysiergefäß nach K. F. SCHEID wird von der Firma Membranfiltergesellschaft A.G., Sartoriuswerke, Göttingen, hergestellt.

darauf beschränken, irgendwelche „Zacken“ oder Kurvenbilder unmittelbar mit Krankheiten in Beziehung zu setzen. Auch die Kriterien der „Empfindlichkeit“ der Reaktionen werden damit andere. Eine „Normalkurve“ der m.M.R. bei erhöhtem Eiweißgehalt bedeutet z. B. nicht, daß hier das Mastixsol wegen mangelnder Empfindlichkeit nicht anspricht, sondern daß ein pathologischer Liquor des vorwiegend albuminösen Typus vorliegt. Die Kolloidreaktionen lassen also Rückschlüsse auf die Zusammensetzung des Liquors an hochmolekularen Stoffen zu. Die Eigenart und Besonderheit dieser Zusammensetzung bei den verschiedenen Erkrankungen wird dann für den Kliniker zu einem pathophysiologischen Problem, das — wie wir schon früher zeigen konnten — wesentlichste Fragen der allgemeinen und speziellen Pathologie berührt.

Zusammenfassung.

1. Sämtliche Kolloid-Eiweißreaktionen beruhen auf der gleichen Grundtatsache, nämlich der Reaktion der ionischen Gruppen des (hydrophoben) Kolloids mit den entsprechenden des Eiweißkörpers. Wegen der zwitterionischen Struktur der Proteine kann das hydrophobe Kolloid sowohl elektronegativ (Mastix, Goldsol, Collargol, Arsentrissulfidsol usw.) als auch elektropositiv (Eisenhydroxyd, Nachtblau) sein.

2. Bei allen Kolloid-Eiweißreaktionen finden sich grundsätzlich die gleichen Erscheinungen, nur in quantitativ etwas wechselnder Ausprägung: Fällung der Kolloid-Eiweißaggregate am isoelektrischen Punkt des untersuchten Eiweißkörpers, Sensibilisierung des Komplexes bei niedriger Proteinkonzentration in der Nähe des isoelektrischen Punktes und Stabilität der Aggregate entfernt vom isoelektrischen Punkt.

3. Variiert man die Wasserstoffionenkonzentration, d. h. setzt man eine p_H -Reihe an, so kann man die isoelektrischen Punkte der untersuchten Eiweißkörper angenähert schätzen. Dies ist das Prinzip der Salzsäurecollargolreaktion.

4. Variiert man die Eiweißkonzentration bei konstantem p_H , d. h. setzt man eine Verdünnungsreihe an, so lassen sich die Serumeiweißkörper gut charakterisieren: Bei p_H 7 ist der Kolloid-Albuminkomplex stabil, das β -Globulin-Kolloidaggregat zeigt einen je nach dem verwandten Kolloid mehr oder weniger ausgeprägten Sensibilisierungseffekt, der γ -Globulin-Kolloidkomplex ist instabil und flockt. Auf diesem Prinzip beruht die modifizierte Mastixreaktion und die Goldsolreaktion. — Bei hoher Eiweißkonzentration tritt an der Goldsolreaktion mitunter die Erscheinung der Rotfällung auf, der bei der m.M.R. ein ähnliches Phänomen entspricht.

5. Die modifizierte Mastixreaktion ist kolloidchemisch am übersichtlichsten und am besten fundiert. Sie geht der Goldsolreaktion weitgehend parallel besonders dann, wenn man diese Reaktion ebenfalls mit dialysiertem Liquor und die Verdünnungsreihe mit dem entsprechenden

Puffer ansetzt. Das Goldsol ist gegen das γ -Globulin empfindlicher als das Mastixsol. Die Goldsolreaktion kann deswegen der m.M.R. in der Feststellung der Eiweißzusammensetzung des Liquors manchmal überlegen sein. Sie „verzerrt“ jedoch mitunter auch den Sachverhalt. *Die Normomastixreaktion ist unbrauchbar.*

6. Die S.C.R. von RIEBELING ist kolloidchemisch weniger übersichtlich. Die Kurvenform wird nicht nur von der Proteinzusammensetzung, sondern auch von der Pufferung des Liquors bestimmt. *Sie ist deswegen verhältnismäßig unwichtig.* Im allgemeinen zeigt die Globulin-Hauptkomponente eine Fällzone in der Nähe ihres isoelektrischen Punktes. Seröse und vorwiegend γ -globulinöse Ex- bzw. Transsudate lassen sich deswegen meist richtig unterscheiden, wenn man das p_H der Fällungszone mißt. Mitunter entstehen jedoch Fehler infolge zu schneller p_H -Änderung von einem Röhrchen zum anderen. Diese Fehler lassen sich wenigstens teilweise vermeiden, wenn man nur dialysierte Liquores untersucht. Die S.C.R. ist also nur mit Einschränkungen in der Praxis brauchbar.

7. Es ist heute nicht mehr gerechtfertigt, Ergebnisse von Kolloidreaktionen (Zacken oder Kurvenbilder) unmittelbar mit Krankheitsbildern in Beziehung zu setzen. Eiweißkolloidreaktionen sind vielmehr physikalisch-chemische Experimente, die sauber ausgeführt, Rückschlüsse auf die Zusammensetzung des Liquors hinsichtlich der Eiweißkörper erlauben. Die Eigenart und Besonderheit dieser Zusammensetzung ist bei den einzelnen Krankheitsgruppen das eigentliche pathophysiologische Problem, das tief in Fragen der allgemeinen Pathologie hineinführt.

Literatur.

- BÖRJESON, OLGA: Malmö Östra Sjukh. Årsberättelse 1941. Ref. Zbl. Neur. **103**, 288 (1943). — BRUNN, GISELA: Allg. Z. Psychiatr. **123**, 325 (1944). — DUENSING, F.: Z. Neur. **169**, 471 (1940); **171**, 758 (1941). — Arch. Psychiatr. (D.) **115**, 157 (1942). — GEORGI, F. u. Ö. FISCHER: Handbuch der Neurologie, Bd. 7. Berlin 1935. — HERRMANN, W.: Kolloid-Z. **89**, 297 (1939). — HUFFMANN, ELISABETH: Arch. Psychiatr. (D.) **109**, 31 (1938). — KAFKA, V.: Die Cerebrospinalflüssigkeit. Leipzig 1930. — KASTEIN, G. W.: Arch. Psychiatr. (D.) **113**, 107, 453 (1941). — KAUSCHE, G. A.: Naturw. **26**, 27 (1938). — Biol. Zbl. **54**, 194 (1939). — KAUSCHE, G. A. u. H. RUSKA: Kolloid-Z. **89**, 21 (1939). — KOCH, H.: Z. Neur. **174**, 715 (1942). — PAULI, W. u. P. DESSAUER: Helvet. chim. Acta **25**, 1225 (1943). — PAULI, W. u. P. SZARVAS: Helvet. chim. Acta **26**, 1885 (1943). — PENNYCUICK, S. W., C. E. WOOLCOCK and R. J. COWAM: J. Path. a. Bacter. **46**, 549 (1938). — PFANNKUCH, E. u. K. HAGENGUTH: Biochem. Z. **313**, 1 (1942). — RIEBELING, C.: Klin. Wschr. **1938 I**, 501. — Nervenarzt **14**, 70 (1941). — Allg. Z. Psychiatr. **120**, 343 (1942). — SCHEID, K. F. u. L. SCHEID: Arch. Psychiatr. (D.) **117**, 219, 312, 641 (1944); **118**, 176 (1945).