

(Aus der Universitäts-Nervenklinik München [Direktor: Prof. *Bumke*.])

## Studien zur pathologischen Physiologie des Liquor cerebrospinalis.

### I. Mitteilung.

Elektrische (kataphoretische) Trennung der Eiweißkörper im Liquor cerebrospinalis von entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems,  
ein Beitrag zur pathologischen Physiologie der meningealen  
und cerebralen Blutgefäße.

Von  
**K. F. und L. Scheid.**

Mit 23 Textabbildungen.

(*Ein gegangen am 11. November 1943.*)

### A. Einleitung.

Die Liquordiagnostik verdankt ihren großen Aufschwung der Einführung der heute gebräuchlichen *Laboratoriumstechnik*, die seit fast drei Jahrzehnten nur wenig modifiziert, unentbehrliches Hilfsmittel der Klinik geworden ist. Wenn sich auch die Beschreibung der Liquorbefunde bei den einzelnen Nervenkrankheiten im Laufe der Zeit erheblich vervollkommen hat, so fehlte uns aber bisher jede Sicherheit, wenn es sich darum handelte, diese Befunde pathologisch-physiologisch zu erklären und damit mittelbar zu einem tieferen Verständnis der pathologischen Vorgänge bei jenen Erkrankungen zu kommen.

Eine solche Vertiefung unserer Erkenntnis ist wesentlich an die Einführung und den Ausbau *neuartiger Untersuchungsmethoden und experimenteller Möglichkeiten*<sup>1</sup> gebunden, da die bisher vorliegende Technik wichtige Fragen nicht sicher zu entscheiden vermag. Es sei nur auf das Problem der Herkunft der Eiweißkörper im Liquor und die sich daraus ergebenden Folgerungen für die pathologische Physiologie der cerebralen und meningealen Blutgefäße hingewiesen. Eine Klärung dieser Frage würde gerade der Klinik neue Anregungen geben.

Es hat in den letzten beiden Jahrzehnten nicht an Versuchen gefehlt, neue experimentelle Wege für die Liquorforschung zu suchen. Die Ausbeute an neuen Erkenntnissen blieb aber im allgemeinen gering<sup>2</sup>. *Das methodische Rüstzeug der normalen und pathologischen Liquorphysiologie ist bemerkenswert rückständig und starr geblieben*, wenn man die moderne

<sup>1</sup> Herrn Geheimrat *Bumke* sind wir für die großzügige Unterstützung unserer Arbeiten zu ganz besonderem Dank verpflichtet. Außerdem wurde die Arbeit durch Mittel der Münchener Universitätsgesellschaft unterstützt.

<sup>2</sup> Siehe z. B. *F. Roeder*: Die physikalischen Methoden der Liquordiagnostik, Berlin 1937.

Entwicklung der physikalischen Chemie etwa der Eiweißkörper<sup>1</sup> zum Vergleich heranzieht. Hierfür sind verschiedene Ursachen verantwortlich zu machen. Der wichtigste Grund liegt in der Tatsache, daß es bisher nicht gelang, die hochverfeinerte Experimentierkunst der Nachbar-disziplinen, nämlich der Physik und der physikalischen Chemie, den Problemen der Liquorphysiologie anzupassen und nutzbar zu machen. Hierfür ist allerdings ein verhältnismäßig hoher Grad an allgemeiner Laboratoriumserfahrung, an physikalischem, chemischem und technischem Wissen und auch an mathematischer Bildung<sup>2</sup> unerlässliche Voraussetzung. Die Zeiten, als es mit geringen Mitteln möglich war, die Wissenschaft vom Liquor weiterzutreiben, sind endgültig vorüber. Es wird sogar in Zukunft auch für die Medizin wieder notwendig werden, eigene experimentelle Forschungsmethoden zu entwickeln. *Die Klinik muß dabei allerdings von der Forderung abstehen, „einfache“, für die „Praxis“ brauchbare Methoden mit unmittelbarem diagnostischen Gewinn zu verlangen.* Die experimentellen Apparaturen nehmen notwendig mit dem Weiterschreiten der Wissenschaft an Kompliziertheit zu. *Dem Kliniker wird aber nicht zuletzt die Lösung von Problemen zugute kommen, die sich unmittelbar am Krankenbett stellen.*

Die vorliegende Untersuchungsserie stellt sich die Aufgabe, in erster Linie die Methoden der modernen physikalischen Chemie der hochpolymeren Stoffe für die Liquorphysiologie fruchtbar zu machen. Die *luftgetriebene Ultrazentrifuge*, wie sie von amerikanischen Autoren entwickelt und auch in Deutschland eingeführt wurde, und die *elektrophoretische Apparatur von Tiselius* sind die hauptsächlichsten Untersuchungsmittel. Darüber hinaus sollen auch noch *andere physikalisch-chemische Methoden* Anwendung finden. Entwicklungsarbeit war nur insofern zu leisten, als die Apparaturen den Besonderheiten der Liquorforschung, insbesondere den geringen Mengen und Konzentrationen angepaßt und unter Umständen entsprechend modifiziert werden mußten.

### B. Die Methodik.

Ein positiv oder negativ geladenes Teilchen, das sich in einer wässrigen Lösung befindet, setzt sich unter der Einwirkung eines elektrischen Stromes in Bewegung. Die *Wanderungsrichtung* wird durch die Art der Ladung bestimmt; positive Partikel werden vom negativen Pol, der Kathode, angezogen, solche mit entgegengesetztem Ladungssinn von der Anode. Die Schnelligkeit dieser Bewegung hängt zunächst von der Stärke des elektrischen Feldes ab, sie wird daher auf die Feldstärke *eins*

<sup>1</sup> Eine gute Übersicht vermittelt das Buch von *The Svedberg und K. O. Pedersen: Die Ultrazentrifuge*. Dresden u. Leipzig 1940.

<sup>2</sup> Eine erste Einführung zum Selbstunterricht gibt *S. P. Thompson: Höhere Mathematik und doch verständlich, übersetzt von Kl. Clusius*, 5. Aufl. Leipzig 1927. — Empfohlen sei ferner für eingehenderes Studium *R. Rothe: Höhere Mathematik, Teil I—III*, 6. Aufl. Leipzig u. Berlin 1940.

bezogen und dann (*absolute*) *Wanderungsgeschwindigkeit* der Partikel genannt. Die *Wanderungsgeschwindigkeit*<sup>1</sup> hat also die physikalische Dimension  $\text{cm}^2 \times \text{sec}^{-1} \times \text{Volt}^{-1}$ .

Die Wanderungsgeschwindigkeit im Einheitsfeld stellt bei den einzelnen Ionen der Salze in wässriger Lösung eine Zahl dar, die unter gleichen Bedingungen (Konzentration und Temperatur) zur Charakterisierung der betreffenden Teilchen dienen kann. Wie die Ionen der anorganischen und organischen Salze sind auch Eiweißkörper in Lösung elektrisch geladen. Auch sie haben eine definierte Wanderungsgeschwindigkeit, wenn man bei bestimmten Versuchsbedingungen (Konzentration des Eiweißes und der anderen in der Lösung vorhandenen Ionen einschließlich der Wasserstoffionen) und bei bestimmter Temperatur untersucht. Die Wanderungsgeschwindigkeit verschiedener Eiweißarten kann erfahrungsgemäß verschieden sein. Es ist also möglich, erstens einen Eiweißkörper mit Hilfe dieser Zahl einigermaßen sicher zu diagnostizieren, es ist aber zweitens auch möglich, ein Gemisch auf elektrischem Wege in einzelne Fraktionen zu zerlegen. Diese Art der Trennung durch Kataphorese stellt einen sehr schonenden Eingriff dar, bei dem diese gegen Chemikalien hochempfindlichen Substanzen keine oder nur verhältnismäßig sehr geringe Veränderungen erleiden.

Die Methode der Bestimmung kataphoretischer Wanderungsgeschwindigkeiten von Eiweißkörpern hat eine Jahrzehntelange Geschichte, es ist aber erst *Tiselius* (1930 und 1937) gelungen, die Apparatur soweit technisch und theoretisch-mathematisch durchzuarbeiten, daß exakte Bestimmungen und Trennungen unter Ausschluß der früheren Fehlerquellen möglich geworden sind.

Das Prinzip der Methodik ist sehr einfach, die Ausgestaltung im einzelnen erforderte wie erwähnt einen erheblichen Aufwand an Scharfsinn und experimenteller Erfahrung. Das gleiche gilt auch für Handhabung und Bedienung der Apparatur. In ein U-Rohr (Abb. 1) wird eine Eiweißlösung bis zur Höhe  $NN'$  eingefüllt und mit einer wässrigen Flüssigkeit überschichtet. Wird nun ein elektrischer Strom durch das U-Rohr gesandt, so verschieben sich die Grenzen Eiweißlösung—Flüssigkeit.

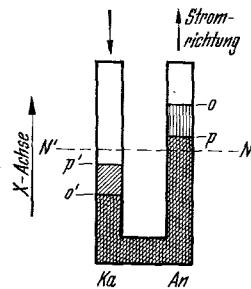


Abb. 1.  
*Kataphoretische Trennung zweier Eiweißkörper schematisch.*  
 Ursprüngliche Über-  
 schichtungsgrenzen  
 bei  $NN'$ . Nach Strom-  
 durchgang durch das  
 U-Rohr während einer  
 bestimmten Zeitdauer  
 in Richtung der Pfeile  
 ist der längsschraff-  
 fierte Eiweißkörper im  
 Anodenschinkel bis  $o$ ,  
 im Kathodenschinkel  
 bis  $o'$ , das langsam  
 wandernde schrägschraffierte Protein bis  
 $p$  bzw.  $p'$  gewandert.  
 Der Raum  $op$  enthält  
 nur längsschraffier-  
 ten, der Raum  $p'o'$  nur  
 schrägschraffierte Ei-  
 weißkörper. Bei  $o$ ,  $p$ ,  
 $o'$  und  $p'$  sind Grenzen  
 entstanden, die optisch  
 als Schlieren sichtbar  
 gemacht werden  
 können

<sup>1</sup> Die Feldstärke wird in Volt pro cm ( $\text{Volt} \times \text{cm}^{-1}$ ) gemessen. Bezüglich des Sinnes der physikalischen Dimensionen wird auf die Lehrbücher der Physik verwiesen.

da die Eiweißteilchen unter bestimmten Bedingungen z. B. entgegen der Richtung des Stromes wandern. Nach einer gewissen Zeit liegt die Grenze im Anodenschenkel (*An*) des U-Rohrs, die sich ursprünglich bei *NN'* befand, bei *p*, die im Kathodenschenkel (*Ka*) bei *p'*.

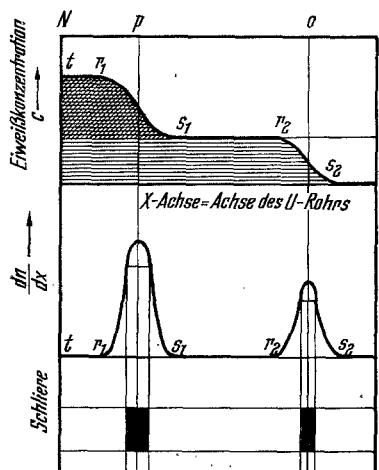


Abb. 2. Kataphoretische Trennung zweier Eiweißkörper graphisch. Der obere Teil der Abbildung stellt die Konzentration an längs- und schrägschraffiertem Eiweißkörper in einem Schenkel des U-Rohrs nach Stromdurchgang während einer bestimmten Zeitdauer dar. Bei *p* und *o* befinden sich die in Abb. 1 schematisch ebenfalls mit *p* und *o* bezeichneten Grenzen. Wegen der Diffusion sind diese Grenzen nicht scharf, vielmehr sinkt die Konzentration längs der Kurvenstücke *r*<sub>1</sub>, *s*<sub>1</sub> und *r*<sub>2</sub>, *s*<sub>2</sub>. Der mittlere Teil der Abbildung zeigt die Kurve des Differentialquotienten der oberen Kurve, d. h. den Verlauf des Brechungsindexgradienten in dem betreffenden Schenkel des U-Rohrs. Bei einer bestimmten Stellung der Schlierenblende wird ein bestimmter Betrag des Brechungsindexgradienten als Schlieren dargestellt (unterer Teil der Abbildung).

machen. Im Institut von *Svedberg* in *Upsala* sind hierfür mehrere Verfahren angewandt und für den besonderen Zweck weiterentwickelt worden, von denen die sog. *Schlieren-Methode (Toepler)* das einfachste ist. In der Abb. 2 (obere Kurve) ist die Verteilung der Eiweißkonzentration im Anodenschenkel des U-Rohrs dargestellt. Die X-Achse entspricht der Achse des U-Rohrs, auf der Ordinate ist die Eiweißkonzentration aufgetragen. An den Grenzen *p* und *o* sinkt diese, und zwar längs der Kurvenstücke *rs*. Dieses langsame und stetige Absinken der Eiweißkonzentration ist durch die immer an Grenzen auftretende

In der Abb. 1 ist das Verhalten zweier Eiweißkörper von *verschiedener* Wanderungsgeschwindigkeit dargestellt; es sei an ihr zugleich das Verfahren der Trennung erläutert. Nach Ablauf der vorgegebenen Zeit nimmt die Lösung des schrägschraffierten Eiweißkörpers mit der langsameren Wanderungsgeschwindigkeit den Raum von *p'* bis *o'*, die des schnelleren längsschraffierten den Raum von *o* bis *p* ein. An den Stellen *o* und *o'* sowie *p* und *p'* sind Grenzen entstanden. Der Abschnitt *o p'* enthält im Anodenschenkel ausschließlich Eiweiß mit der höheren Wanderungsgeschwindigkeit, im Abschnitt *p' o'* des Kathodenschenkels ist die Substanz mit der langsameren Beweglichkeit isoliert. Die auf diese Weise rein erhaltenen Stoffe können durch eine geeignete Vorrichtung abgezogen und zur Analyse gebracht werden.

Die Geschwindigkeiten, mit der sich die Grenzen *o*, *o'* und *p*, *p'* nach aufwärts bzw. abwärts bewegen, ergeben die Wanderungsgeschwindigkeiten des längs- und des schrägschraffierten Eiweißkörpers. Da Eiweißlösungen sehr oft farblos sind, war die Ausgestaltung einer Methode erforderlich, die es gestattet, diese Grenzen sichtbar zu

Diffusion<sup>1</sup> bedingt, welche die Trennfläche zwischen Flüssigkeit und unterschichteter Eiweißlösung verwischt.

Wird nun ein Lichtstrahl senkrecht oder schräg zur Achse durch das U-Rohr gesandt, so erfährt dieser nach den Elementen der Optik keine Richtungsänderung, falls der Brechungsindex im Inneren längs der Achse konstant bleibt. Da der Brechungsindex  $n$  einer Eiweißlösung dem Gehalt an Proteinen direkt proportional ist, wird sich die Brechungszahl längs der gradlinigen Stücke der Konzentrationskurve der Abb. 2 nicht ändern; mit anderen Worten, zwischen den Abschnitten  $t$  und  $r_1$  sowie  $s_1$  und  $r_2$  und endlich  $s_2$  und  $w$  der Abb. 2 tritt keine Richtungsänderung eines quer durch das U-Rohr gehenden Lichtstrahls auf. Anders liegen die Verhältnisse an den durch Diffusion verwischten Grenzen, d. h. zwischen  $r_1$  und  $s_1$  bzw.  $r_2$  und  $s_2$ . Hier ändert sich die Konzentration und damit auch der Brechungsindex längs der Achse des U-Rohrs, der Differentialquotient des Brechungsindex nach der X-Richtung ist ungleich von Null, es tritt, wie man sich ausdrückt, ein Brechungsindexgradient<sup>2</sup> in dieser Richtung auf. In der mittleren Kurve der Abb. 2 ist diese Änderung des Brechungsindex  $n$ , d. h.  $dn/dx$  gegen die Längsrichtung des U-Rohrs, die X-Achse aufgetragen. Lichtstrahlen, die an den Stellen der Brechungsindexänderung das U-Rohr quer durchsetzen, werden gekrümmt und aus ihrer ursprünglichen Richtung abgelenkt.

Die optische Anordnung zur Beobachtung der wandernden Grenzen mit Hilfe der *Schlieren*-Methode ist in Kürze folgende (Abb. 3): Die Lichtquelle (Quecksilberniederdrucklampe  $a$  mit Filter  $b$  zur Erzeugung einfarbigen Lichtes) beleuchtet einen schmalen horizontalen Spalt  $c$ . Dieser Beleuchtungsspalt wird genau auf einem zweiten ebenfalls horizontalen und verstellbaren Spalt (der Schlierenblende)  $g$  vermittels einer großen Linse (Schlierenkopf)  $d$  abgebildet. Dabei durchsetzen die Lichtstrahlen das im Thermostaten  $e$  befindliche U-Rohr  $f$ , dessen Achse natürlich vertikal steht. Hinter der Schlierenblende  $g$  befindet sich ein Kameraobjektiv  $h$ , das auf das U-Rohr eingestellt ist und dessen Bild auf der Mattscheibe bzw. photographischen Platte  $i$  entwirft. Ist der Brechungsindex längs der Achse des U-Rohrs konstant, so wird dieses

<sup>1</sup> Die Kurvenstücke  $rs$  werden durch eine bestimmte Lösung der partiellen Differentialgleichung, welche das Diffusionsgesetz (Fick) formuliert, bestimmt. Die Kurvenform ergibt sich aus einer Funktion, die eben jene Lösung darstellt und mit dem sog. Wahrscheinlichkeitsintegral identisch ist. Eine einfache Rechnung zeigt, daß die ursprünglichen Trennflächen  $o$  und  $p$  an den Stellen liegen, an denen die Konzentration durch die Diffusion auf die Hälfte gesunken ist. (Siehe A. Eucken, Grundriß der physikalischen Chemie, 5. Aufl., S. 371. Leipzig 1942 und The Svedberg u. K. O. Pedersen: Die Ultrazentrifuge, S. 6.)

<sup>2</sup> Eine eingehende mathematische Behandlung dieser Verhältnisse findet sich bei The Svedberg und K. O. Pedersen: Die Ultrazentrifuge, S. 228 u. 230 sowie in den Ergebnissen der exakten Naturwissenschaften, Bd. 20. Berlin 1942, Abschnitt von H. Schardin: Die Schlierenverfahren und ihre Anwendungen.

gleichmäßig hell erscheinen, da die es durchsetzenden Lichtstrahlen keine Richtungsänderung erleiden und durch die Schlierenblende *g* in das Kameraobjektiv fallen. An den Grenzen dagegen werden die Lichtstrahlen infolge der oben beschriebenen Verhältnisse gekrümmt, aus ihrer Richtung abgelenkt, und sie fallen daher nicht mehr genau in die spaltförmige Schlierenblende *g*, sondern auf deren untere Spaltbacke. Sie gelangen deswegen nicht mehr oder doch nur noch teilweise in das Kameraobjektiv *h*. Infolgedessen muß die Gegend der Trennungsflächen zwischen Proteinlösung und Flüssigkeit auf der Mattscheibe als querlaufendes, je nach der Konzentrationsänderung mehr oder weniger

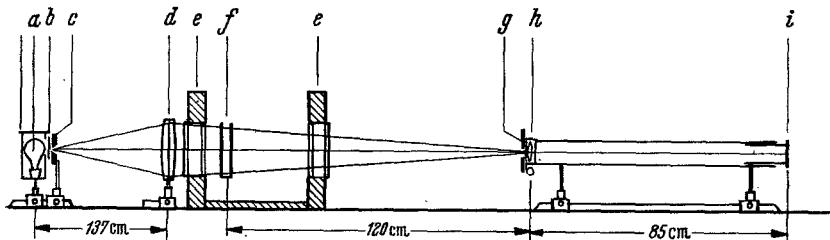


Abb. 3. Schematische Übersicht über die Kataphoresearrapparatur. *a* Quecksilberniederdrucklampe mit Gehäuse, *b* Grünfilter, *c* Beleuchtungsspalt, *d* Schlierenkopf, *e* Thermostat mit Doppelfenstern, *f* U-Rohr, *g* Schlierenblende, *h* Kameraobjektiv, *i* photographische Platte bzw. Mattscheibe. Der Spalt *c* wird durch den Schlierenkopf *d* auf die Schlierenblende *g* abgebildet. Das Kameraobjektiv *h* ist auf das U-Rohr *f* eingestellt.

scharfes dunkles Band erscheinen. Nach erfolgter Trennung der einzelnen Eiweißkörper durch den Strom werden diese Schlieren photographiert (Abb. 5—9, 12—14, 17, 18, 20 und 21), die Geschwindigkeit ihrer Verschiebung gemessen und daraus die Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen getrennten Eiweißkörper berechnet. Die Breite der Schlieren hängt von der Weite der Schlierenblende *g* ab. Es wird also ein bestimmter Betrag der Brechungsindexänderung (bestimmter Wert von  $dn/dx$ ) als Schlierenband dargestellt (Abb. 2, unterer Teil). Daher läßt sich die Kurve des Brechungsindexgradienten (Abb. 2, mittlerer Teil) bestimmen, wenn man die Breite der Schlieren ausmisst und sie gegen die Stellung der unteren Spaltbacke in einem Koordinatensystem aufträgt (Abb. 10, 11, 15, 16, 19, 22 und 23). Aus diesen Kurven kann man den relativen Anteil der einzelnen Komponenten an der gesamten Eiweißkonzentration abschätzen, wie weiter unten im einzelnen gezeigt werden soll.

Im folgenden sollen die *experimentellen Einzelheiten* beschrieben werden. Es sei noch einmal betont, daß Bedienung und Pflege der Apparatur ein großes Maß an physikalisch-chemischer Laboratoriumserfahrung voraussetzt. Unter dieser Bedingung arbeitet sie einwandfrei. Die Methode eignet sich aus diesen Gründen jedoch nicht zur Ausführung „klinischer“ Reihenuntersuchungen. Sie ist zur Lösung bestimmter pathophysiologischer Fragen gedacht.

1. *Entnahme und Aufbewahrung der Liquores.* Die Entnahme der Liquors geschah in der gewohnten Weise lumbal, suboccipital oder durch Ventrikelpunktion.

Um parallele Untersuchung mit der üblichen Laboratoriumstechnik durchzuführen waren jeweils im ganzen 20—25 ccm erforderlich. Zur Aufbewahrung wurden die Punktate in Ampullen (aus Reagensgläsern gefertigt) eingeschmolzen und diese bei — 15° im Tiefkühlschrank eingefroren. Nur auf diese Weise lassen sich eiweißhaltige Flüssigkeiten ohne erkennbare Änderung ihrer Struktur und ohne bakterielle Verunreinigung monatelang aufbewahren.

*2. Dialyse der Liquores und die Gesamteiweißbestimmung.* Vor dem Versuch müssen die Liquores dialysiert werden, um sie auf genau das gleiche  $p_H$  zu bringen wie die Pufferlösung, mit der sie im Kataphoreserohr überschichtet werden sollen. Zu diesem Zweck ist von uns eine besondere Dialysierapparatur für kleine Mengen (etwa 5 ccm) entwickelt worden, die in der nächsten Mitteilung ausführlicher beschrieben wird. Es handelt sich um kleine Glasgefäße mit langem Stiel, die aus drei Teilen, dem Oberteil, einem Glasring und dem Unterteil bestehen. Die Größenverhältnisse mögen aus der Abb. 1 der nächsten Mitteilung entnommen werden. Die Schlitte zwischen den einzelnen Teilen werden leicht gefettet, der Glasring wird auf das Oberteil gedrückt, die trockene Membran aufgelegt und das Unterteil auf die Membran mit Hilfe der Gummiringe gepreßt. Die Füllung erfolgt mit einem Trichter, dessen Trichterrohr bis dicht oberhalb der Membran in den Stiel des Gefäßes eingeführt wird, um Luftblasenbildung zu vermeiden. Es wird Liquor bis zu einer bestimmten Marke am Anfangsteil des Stiels gefüllt. Als Membranen eignen sich entsprechend zugeschnittene Stücke der Dialysierschläuche von Kalle und Co. (Biebrich), die durch Quellung einen eiweißdichten Abschluß erzielen. Gewöhnliche Cellophan- oder Kuprophanmembranen sind ungeeignet. — Mehrere Dialysiergefäße werden am Stiel in einen Bürettenhalter eingeklemmt, so daß die Außenflüssigkeit bis zur Füllungsmarke am Anfangsteil des Stiels reicht. Der Bürettenhalter wird durch einen kleinen Elektromotor in Umdrehungen versetzt und auf diese Weise für ausreichende Rührung gesorgt. Die ganze Apparatur wird in ein an das Kälteaggregat des Eisschranks angeschlossenes Kältebad gesetzt, so daß bei 1—4° dialysiert wird, um Bakterienwachstum und Strukturänderung des Eiweißes zu verhindern. Durch interferometrische und spektrographische Untersuchungen sowie durch Bestimmung des Stickstoffes konnten wir zeigen, daß unter normalen Bedingungen (normaler Rest-N) erst nach 48 Stunden die niedermolekularen Stoffe des Liquors praktisch ausreichend entfernt sind<sup>1</sup>. Naturgemäß ist nach dieser Zeit auch eine völlige Angleichung des  $p_H$  in der Innen- und Außenflüssigkeit eingetreten.

Die Bestimmung des Gesamteiweißes mußte unter Schonung des Materials, von dem nur beschränkte Mengen zur Verfügung standen, erfolgen. Aus diesem Grunde wurde nach der Dialyse das Dialysat gegen die Außenflüssigkeit in dem Wasserinterferometer von Zeiß interferometriert, bevor es zur Kataphorese verwandt wurde. Das Interferometer<sup>2</sup> ließ sich mit einer Harnstofflösung von bekanntem Harnstoffgehalt auf Brechungsindexdifferenzen leicht eichen. Als spezifisches Inkrement für Eiweiß wurde der Wert 0,00202 verwandt. Vergleichende Stickstoffbestimmungen ergaben eine befriedigende, wenn auch nicht ideale Übereinstimmung zwischen den interferometrisch und kjeldahlometrisch gewonnenen Eiweißwerten. Für unsere Zwecke ist die Genauigkeit jedenfalls ausreichend. Das beschriebene Verfahren der interferometrischen Eiweißbestimmung ist wesentlich exakter als die ganz ungenauen volumetrischen (Kafka) und die ebenfalls nicht einwand-

<sup>1</sup> Die in der Literatur angegebenen Zeiten zur Trennung der hochmolekularen von den niedermolekularen Substanzen durch Dialyse sind also meist zu kurz, zumal offenbar oft nicht für ausreichende Rührung gesorgt wurde.

<sup>2</sup> Herrn Prof. K. Clusius, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität, sprechen wir für die leihweise Überlassung eines Interferometers unseren verbindlichsten Dank aus.

freien nephelometrischen Methoden, deren Schwächen *Hinsberg* und *Lang* mit Recht hervorhoben. Auf der Interferometrie des *nicht dialysierten* Liquors gegen Wasser oder Kochsalzlösung (*Roeder*) läßt sich keine Eiweißbestimmung aufbauen, da die zur Lichtbrechung beitragenden dialysierbaren Substanzen des Liquors mengenmäßig von Fall zu Fall schwanken.

3. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration und der Leitfähigkeit wurden mit den entsprechenden Apparaturen (Potentiometer und Lyograph) der Firma *Lautenschläger*, München, durchgeführt. Das  $p_{\text{H}}$  ließ sich mit einer für unsere Zwecke genügenden Genauigkeit an der Chinhydronelektrode unter Berücksichtigung der Temperatur feststellen. Die Messung der Leitfähigkeit erfolgte bei der Temperatur der Kataphorese durch Einsenken des Meßgefäßes in den Thermostaten des U-Rohrs. Das Meßgefäß bestand aus einem einfachen Becher mit den am Deckel festgekitteten Elektroden. Die Bestimmung der Widerstandskapazität geschah mit Hilfe einer  $n/50$  KCl-Lösung, deren spezifische Leitfähigkeit bei  $0^{\circ}$   $0,001522 \Omega^{-1} \times \text{cm}^{-1}$  beträgt.

4. Die Bestimmung der *kataphoretischen Wanderungsgeschwindigkeit* erfolgte mit der von der Firma *Hellige*, Freiburg i. Br., gelieferten Apparatur nach *Tiselius*. Allerdings mußten einige sehr wichtige Änderungen an der Optik vorgenommen werden, da die mitgegebenen Spalte unseren Ansprüchen nicht genügten und Justiervorrichtungen, die unbedingt erforderlich sind, an der photographischen Kamera des gelieferten Apparates fehlten. Eine ausführliche Beschreibung der Versuchsanordnung findet sich bei *Tiselius*; es soll deswegen an dieser Stelle nur über zusätzliche Erfahrungen berichtet werden, die im Laufe der Arbeit gewonnen wurden.

a) Das Kältebad besteht aus dem mit Doppelfenstern versehenen Thermostaten, ein innen vernickelter, außen zur Isolierung mit Kork und Holz verschalter Kupferbehälter<sup>1</sup> und der Kühlslange. Es erwies sich als zweckmäßig, ihre Windungen so zu legen, daß ihre Achse mit der Richtung der optischen Achse ungefähr zusammenfällt. Das Kälteaggregat<sup>2</sup> betreibt über eine Schalttafel mit entsprechenden Ventilen sowohl die Kühlslange des Thermostaten und die Dialysierapparatur, als auch einen großen Eisschrank. Die Temperatur des Kältebades kann zwischen  $0,3$  und  $0,7^{\circ}$  gehalten werden, eine für die Versuche ausreichende Konstanz.

b) Die Abb. 4 gibt die Einzelheiten des zur Kataphorese benutzten *U-Rohrs* wieder. Es besteht aus mehreren Teilen (*a* bis *d*), die auf ebene geschliffene Glasplatten montiert sind. Sie lassen sich gegeneinander verschieben, und zwar mit Hilfe der Puffer *p*, die mit Preßluft betrieben werden. Beim Überschichten wird zunächst Teil *a* und *b* mit Eiweißlösung gefüllt, Teil *b* dann nach links oder rechts geschoben und auf diese Weise gegen *c* abgeschlossen. Wenn *c* mit der Überschichtungsflüssigkeit gefüllt ist, wird das U-Rohr in den Thermostaten eingesenkt. Nachdem sich die Temperatur ausgeglichen hat, wird Teil *b* (Abb. 4) wieder zurückgeschoben und auf diese Weise nach dem Schieberprinzip überschichtet. Das U-Rohr ist mit Hilfe von Gummischläuchen an zwei große Gefäße angeschlossen, in denen sich die unpolarisierbaren Elektroden (Ag-AgCl-Elektroden) befinden. Sie sind in Abb. 4 nicht dargestellt.

Nach Überschichtung ist die Grenze zunächst nicht sichtbar, da sie sich zwischen den Abteilungen *b* und *c* befindet und von den Grundplatten verdeckt wird. Um sie sichtbar zu machen, wird aus dem Elektrodengefäß der Kathode mit Hilfe einer 1 ccm-Spritze, an die eine lange feine Nadel montiert ist, etwa  $1-1\frac{1}{2}$  ccm

<sup>1</sup> Von der Firma *G. Wagner*, München 5, Baaderstr. 13, hergestellt.

<sup>2</sup> Die Anlage wurde von der Firma *Gustav Huber* Nachf. o. H., Passage im Deutschen Theater, München, eingerichtet.

Flüssigkeit langsam innerhalb 1—5 Min., je nach der Eiweißkonzentration, herausgesogen. Sind die Grenzen erschienen, so wartet man mit dem Einschalten des Stromes etwa  $\frac{1}{4}$  Stunde. Dieses Verfahren hat sich uns als einfacher und zweckmäßiger erwiesen als die Verwendung der von *Tiselius* angegebenen und der Apparatur mitgelieferten Compensationseinrichtung, die darin besteht, daß ein

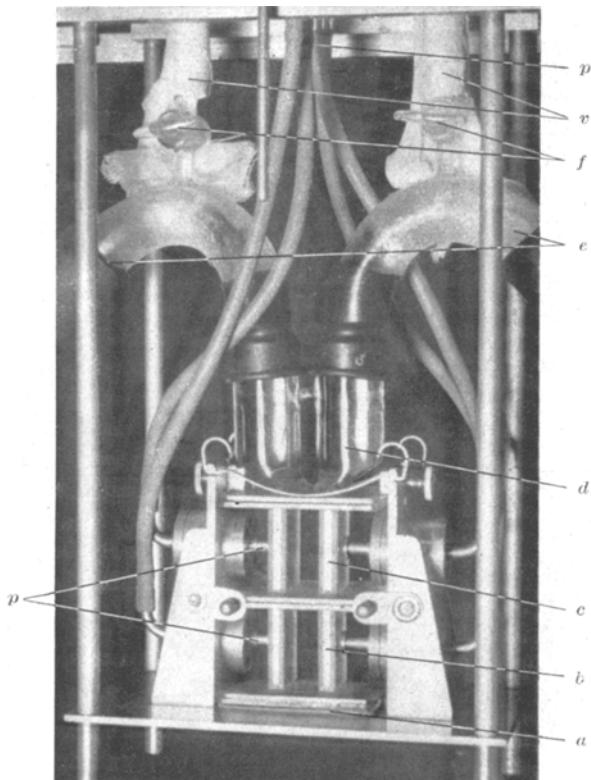


Abb. 4. Das U-Rohr der Apparatur. a Grundplatte mit Bodenteil, b und c Unter- und Mittelstück, d Oberteil, e Anschluß zu den Elektrodengefäßen (nicht dargestellt), f Hähne zur Ausgleichsleitung v, p pneumatische Puffer mit Leitung p'.

Ebonitzylinder durch ein Uhrwerk langsam aus dem Elektrodengefäß herausgezogen wird.

Die Stabilität der Grenzen hängt von dem Dichteunterschied zwischen den beiden überschichteten Flüssigkeiten ab. Infolgedessen sind Grenzen bei den Eiweißkonzentrationen, wie wir sie im Liquor finden, gegen Einwirkungen aller Art besonders empfindlich. An erster Stelle stehen hier die *thermischen Einwirkungen*, wohingegen auch zarte Grenzen bei Erschütterungen nicht so leicht zerreißen. Temperaturdifferenzen zwischen den in den verschiedenen Abschnitten des Kataphoresapparates vorhandenen Flüssigkeiten führen notwendig sofort zum Zusammenbruch der Überschichtungsfläche. Der von der Firma *Hellige* gelieferte Apparat wird in das Kältebad bis etwa zur Höhe der Hähne f (Abb. 4) versenkt. Die Verbindungsschläuche v und das an sie angeschlossene Glasrohr, das den Druckausgleich vermittelt, liegen außerhalb des Thermostaten. Hierdurch

kann es zu Temperatur- bzw. Dichteunterschieden zwischen der im U-Rohr und der in der Gegend von  $v$ ,  $f$  oder  $e$  befindlichen Flüssigkeit kommen, so daß die Lösung im U-Rohr wegen ihrer geringeren Dichte nach oben steigt und die Überschichtungsgrenze zerreißt oder doch erheblich verbiegt. Es empfiehlt sich daher, die aus dem Thermostatenwasser herausragenden Teile, insbesondere die Hähne  $f$  und das Glasrohr oberhalb von  $v$  mit einer Bandage zu umwickeln und diese öfters mit Thermostatenwasser zu befeuchten. Bei einer neuen Konstruktion der Apparatur erscheint es dringend notwendig, diese Fehlerquelle durch tieferes Versenken aller Glasteile in das Kältebad auszuschalten.

Um Druckunterschiede zu vermeiden, die durch den verschiedenen Ausdehnungskoeffizienten des Glases und der Flüssigkeit bedingt sein können, muß die auf annähernd  $0^\circ$  gekühlte Lösung in das ebenfalls *kalte* U-Rohr gebracht werden. An warmen Tagen empfiehlt es sich, das U-Rohr während der Füllung noch besonders mit Eisstückchen zu kühlen. Auch bei Anwendung aller dieser Vorsichtsmaßregeln, die sich uns in mehrjähriger, fast täglicher Arbeit mit der Apparatur ergeben haben, ist es noch notwendig, das gefüllte Rohr  $1-1\frac{1}{2}$  Stunden im Kältebad zu belassen, ehe es geöffnet wird.

Auf die beschriebene Weise lassen sich eiweißhaltige Flüssigkeiten bis zu einer Konzentration von  $40-50$  mg % noch überschichten, ohne daß die Grenzen zerreißen.

Die Elektrodengefäße mit ihren Ansatzstutzen wurden mit bei etwa  $28^\circ$  schmelzendem Paraffin überzogen, um die nach unseren Messungen nicht unerheblichen *Kriechströme*, die nach Einschalten des Stromes auftreten, herabzudrücken. Es ist trotzdem möglich, daß diese Kriechströme eine ernste Fehlerquelle bei der quantitativen Auswertung der Versuche darstellen.

c) Die *Optik* mußte, wie schon oben erwähnt, wesentlich verbessert werden. Der mitgelieferte *Beleuchtungsspalt* wurde durch einen verstellbaren besseren ersetzt<sup>1</sup>. Ebenso erwies sich die Schlierenblende der Apparatur von *Hellige* als ungenügend. Aus diesem Grunde wurde ein mit Hilfe eines Schneckengetriebes verschiebbarer optischer Präzisionsspalt<sup>1</sup> gebaut, dessen untere Backe sich bei einer Umdrehung um  $0,5$  mm verschiebt. Auf diese Weise läßt sich die Backe um etwa  $1/100$  mm ohne jeden toten Gang verstetzen, die Verschiebungen sind auf einer neben der Mattscheibe angebrachten Kreisteilung ablesbar. Feinste Brechungsindexgradienten lassen sich auf diese Weise noch sichtbar machen.

Als *Lichtquelle* wurde eine Osram-Quecksilber-Dampflampe (Type Hg Q 300) verwandt, das Licht der grünen Linie von  $546 \mu$  durch eine geeignete Filterkombination (*Wratten*-Filter oder Kombination von *Schott*-Gläsern) praktisch monochromatisch gemacht.

Mit Hilfe unserer Präzisionsschlierenblende ist auch eine *quantitative Auswertung* der kataphoretischen Trennungen möglich. Das Verfahren beruht auf der Tatsache, daß die Breite des Schlierenbandes von der Stellung der unteren Spaltbacke der Schlierenblende abhängig ist. Mißt man also die Lage der Schlierenbänder bzw. ihre Breite bei verschiedenen Spaltstellungen und trägt die Ergebnisse in ein Koordinatensystem ein, so erhält man die Gradientenkurve  $dn/dx = f(x)$  (Abb. 1, mittlerer Teil). Durch Integration ergibt sich  $n = \int f(x) dx$ , d. h. der Brechungsindex und damit auch die Konzentration der einzelnen Eiweißkomponenten ist dem Flächeninhalten unter den einzelnen Gipfeln (Abb. 10, 11, 15, 16, 19, 22 und 23) proportional. Die Flächen müssen also mit dem Planimeter ausgemessen werden. Bei bekannter interferometrisch festgestellter Gesamteiweißkonzentration läßt sich die Konzentration der einzelnen Komponenten dann angeben. Die Methode ist nicht völlig genau. Einmal ist die Lage der Grundlinie, der X-Achse unsicher, ferner läßt sich die Breite der Schlierenbänder bei flacher

<sup>1</sup> Hergestellt von der Firma *Karl Heusing*, München 25, Planeggerstr. 23.

Gradientenkurve oft nicht ganz zuverlässig mit dem Meßmikroskop messen. In diesem Falle ist nämlich die Lichtablenkung so gering, daß noch ein Teil des Lichtes in die Schlierenblende fällt und an dem entsprechenden Schlierenband eine verwaschene Grenze, d. h. ein allmählicher Übergang zwischen Helligkeit und Dunkelheit zu sehen ist. Diese Schwierigkeit ließe sich durch Ausphotometrieren grundsätzlich beheben. Wir haben jedoch auf diese Komplizierung verzichtet und uns mit einer möglichst genauen Messung der Hell-Dunkelgrenze begnügt. Bei genügender Zahl von Meßpunkten erlaubt das Verfahren jedenfalls Relativmessungen, auf die es uns im wesentlichen ankam. — Mit der von der Firma *Hellige* gelieferten Optik läßt sich die *Skalermethode (Lamm)* nicht durchführen. Der Brechungsexponentgradient in der Cuvette hat eine erhebliche Linsenwirkung, d. h. die durch ihn hindurchgehenden Lichtstrahlen werden vor der Mattscheibe vereinigt, wenn diese auf die Skala hinter der Cuvette eingestellt ist. Infolgedessen sieht man an der Stelle des Gradienten keine Strichverschiebung, sondern eine Lücke in der Skala. Zum Gebrauch der Skalenmethode wäre eine wesentlich längere Brennweite des Kameraobjektives erforderlich. (Siehe auch bei *Svedberg* und *Pedersen*: Die Ultrazentrifuge.)

d) Die *elektrische Einrichtung* wurde in der von *Tiselius* angegebenen Weise verwandt. Ein großer Widerstand im Primärkreis des Transformator-Gleichrichtersystems ermöglicht eine einwandfreie Regulierung der Spannung<sup>1</sup> im Sekundärkreis über einen weiten Bereich. Diese Spannung selbst wurde nicht gemessen, vielmehr ließ sich die Stromstärke im Hochspannungskreis mit Hilfe eines Meßgerätes (*Multavi*, *Hartmann* und *Braun*) mit genügender Genauigkeit bequem feststellen. Die Berechnung der Feldstärke erfolgt nach der Formel

$$F = \frac{i}{q \cdot z},$$

wobei  $q$  den Querschnitt<sup>2</sup> des U-Rohrs,  $z$  die Leitfähigkeit und  $i$  die abgelesene Stromstärke bedeutet.

Die bei Einschalten des Stromes auftretende Wärme führt zu Temperaturdifferenzen zwischen dem zentralen und dem peripheren Teil des U-Rohrs, wie von *Tiselius* eingehend untersucht wurde. Überschreiten diese Temperaturdifferenzen ein bestimmtes tragbares Maß, so treten Konvektionen in der Flüssigkeit auf, die zum Zerreissen der Überschichtungsgrenzen führen. Nach dem im Abschnitt b) ausgeführten ist die Empfindlichkeit dieser Überschichtungsgrenzen von der Eiweißkonzentration abhängig. Es ist also für jede Eiweißkonzentration nur jeweils eine maximale Wärmeproduktion (gemessen in Watt/ccm) zulässig, wenn die Überschichtungsfächen stabil bleiben sollen. Die Anzahl der Watt/ccm berechnet sich nach der Formel

$$W = F^2 \cdot z,$$

hängt also von der Feldstärke und der Leitfähigkeit ab. Die Feldstärke kann nur bis zu einem Betrag herabgemindert werden, der noch eine Trennung der in Frage kommenden Eiweißkörper zuläßt. Bei niedrigen Eiweißkonzentrationen ist es daher notwendig, die Leitfähigkeit der verwandten Pufferlösungen herabzusetzen. Auch hierfür ist eine untere Grenze gesetzt, und zwar einmal durch die Tatsache, daß die Globuline eine gewisse Menge von Elektrolyt zur Lösung

<sup>1</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Neuerdings wurde die Spannung mit Hilfe einer Stabilisierungsanlage (Glimmröhre) konstant erhalten. Einzelheiten werden in der dritten Mitteilung angegeben.

<sup>2</sup> Die Bestimmung des Querschnitts  $q$  erfolgte durch Kalibrierung mit Quecksilber, von dem eine abgewogene Menge in das U-Rohr eingegossen wurde. Aus der photographisch aufgenommenen Steighöhe und der Dichte des Quecksilbers (13,5940 bei 0,4°) läßt sich der Querschnitt leicht ausrechnen.

benötigen. Zweitens ist die Pufferung in verdünnten Pufferlösungen wesentlich schlechter als in konzentrierten, und hierdurch treten Anomalien an den wandernden Grenzen auf, die von *Tiselius* eingehend beschrieben wurden (Dissertation, Upsala). Eine Berücksichtigung aller dieser etwas verwickelten Verhältnisse ergibt die in Tabelle 1 zusammengestellten Zusammenhänge. Für jede der im Versuch vorkommenden Eiweißkonzentrationen ist hier die Ionenstärke<sup>1</sup> der Pufferlösung, die tragbare Belastung, die Feldstärke und die Stromstärke angegeben.

Tabelle 1.

Eiweißkonzentration in mg-%	Ionenstärke der Pufferlösung	Tragbare Belastung in Watt/ccm	Feldstärke in Volt×cm <sup>-1</sup>	Stromstärke in mA
1000—3000	0,10	0,1—0,15	6—7	14—17
500—1000	0,10	0,05—0,10	4—6	9—14
300—500	0,03	0,016—0,01	3—4	2,5—3,5
100—300	0,03	0,005—0,01	2,3—3	2,0—2,5
50—100	0,03	0,004	2	1,5

Es wurde ausschließlich der Kathodenschenkel benutzt, der bei unserer Apparatur einen Querschnitt von 0,82 cm<sup>2</sup> hat.

### C. Die Untersuchungsergebnisse.

#### 1. Die Eiweißkörper des Blutserums- bzw. Plasmas.

Unsere Kenntnisse über die natürlich vorkommenden Eiweißkörper haben sich vornehmlich dank der in Upsala von *The Svedberg* und seinen zahlreichen Mitarbeitern mit Hilfe der Ultrazentrifuge durchgeführten Untersuchungen während des letzten Jahrzehnts ganz erheblich erweitert. Ein Ergebnis ist vor allem überraschend und für jede biologische oder medizinische Fragestellung von entscheidender Bedeutung: Natürliche Eiweißlösungen, wie etwa das Serum, besitzen eine wohldefinierte physikalisch-chemische Struktur, und zwar in dem Sinne, daß nur eine begrenzte Zahl von Molekülgrößen<sup>2</sup> bzw. Molekulargewichten in ihnen vertreten sind. Man nennt solche Systeme paucidispers. Im Blutserum sind z. B. normalerweise nur Eiweißteilchen von drei verschiedenen Größen bzw. Gewichten zu finden (*v. Mutzenbecher, McFarlane*), wenn man von den in sehr geringer Menge noch außerdem vorkommenden relativ schweren Partikeln absieht. Zwischen diesen drei Größenklassen

<sup>1</sup> Unter Ionenstärke  $\mu$  versteht man den Ausdruck  $\mu = 1/2 \sum m_i i^2$  (vgl. *G. N. Lewis* und *M. Randall*: Thermodynamik, S. 322, Wien 1927 und *F. W. Küster* u. *A. Thiel*: Logarithmische Rechentafeln, 51. bis 55. Aufl., S. 166, 167. Berlin 1941). Hierbei bedeutet  $m$  die Molarität des beteiligten Ions,  $i$  seine Wertigkeit. Ein Gemisch von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  und  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  hat z. B. an einwertigen Ionen  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  und  $(\text{H}_2\text{PO}_4^-)$ , an zweiwertigen Ionen nur  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Die Ionenstärke ist also  $\mu = 1/2 \times$  (molare Konz. von  $\text{Na}^+$  + molare Konz. von  $\text{K}^+$  + molare Konz. von  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  + molare Konz. von  $\text{HPO}_4^{2-} \times 4$ ).

<sup>2</sup> Der Ausdruck „Molekül“ wird hier im physikalischen Sinne gebraucht, wie dies bei *Svedberg* üblich ist. Vgl. auch *H. Staudinger*: Organische Kolloidchemie, S. 148. Braunschweig 1941.

gibt es keine Übergänge. In dieser Beziehung besteht ein scharfer Gegensatz zu der Mehrzahl der *künstlich* hergestellten kolloidalen Lösungen, bei denen *eine* Teilchengröße am häufigsten vorkommt, kleinere und größere aber in *stetiger* Folge mit abnehmender Häufigkeit ebenfalls angetroffen werden. Derartige kolloide Systeme heißen polydispers. Es sei noch erwähnt, daß *McFarlane* unter pathologischen Verhältnissen das Auftreten von Eiweißkomponenten mit Molekulargewichten beobachten konnte, die im normalen Serum nicht vorhanden sind.

Ebenso wie der Ultrazentrifugenversuch, so ergibt auch die Untersuchung im *elektrischen Feld* mit Hilfe der Elektrophorese eine wohlgeordnete physikalisch-chemische Struktur der natürlichen eiweißhaltigen Lösungen (*Tiselius*). Die in diesen Lösungen vorhandenen Eiweißkörper lassen sich ebenfalls in bestimmte Klassen einordnen, wenn man sie durch ihre Wanderungsgeschwindigkeit charakterisiert. Dabei war es von vornherein natürlich nicht selbstverständlich, daß einem bestimmten Molekulargewicht auch eine bestimmte Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld entsprechen würde, daß sich also mit anderen Worten der gleiche Molekeltypus sowohl hinsichtlich seines Molekulargewichtes als auch hinsichtlich seines elektrischen Verhaltens gleich verhalten würde. Tatsächlich ist dies nur mit Einschränkungen der Fall. Es gibt also Eiweißteilchen, die das gleiche Molekulargewicht, aber *verschiedene* kataphoretische Wanderungsgeschwindigkeit zeigen und auch umgekehrt. Oft zeigt jedoch ein bestimmter Molekeltypus bei einem charakteristischen Molekulargewicht auch eine charakteristische Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld.

Dies ist im Serum bzw. Plasma der höheren Säugetiere und des Menschen weitgehend der Fall. Die Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die gewonnenen Ergebnisse am Beispiel des Pferdeserums, dessen Zusammensetzung dem menschlichen weitgehend gleicht.

Neben dem Albumin und dem ausschließlich im Plasma vorhandenen Fibrinogen finden sich im Serum noch drei Globuline, das  $\alpha$ -, das  $\beta$ - und das  $\gamma$ -Globulin. Diese Verhältnisse sind im normalen Serum wenigstens in qualitativer Hinsicht streng reproduzierbar (Abb. 5—11). Die vier im Serum auf elektrischem Weg darstellbaren Eiweißkörper haben eine bestimmte Teilchengröße, d. h. ein definiertes Molekulargewicht, gemessen an ihren Sedimentationskonstanten (Tabelle 2). Die Tabelle 2 zeigt weiter, daß die Benennung der einzelnen im Kataphoreseversuch dargestellten Substanzen nicht mit den Bezeichnungen übereinstimmt, die in den Arbeiten über Ultrazentrifugierung des Serums vorkommen. Dies hat ausschließlich historische Gründe, da sich die Beziehungen zwischen beiden Versuchsreihen erst allmählich herausstellten. In dieser Arbeit wird ausschließlich die Nomenklatur verwandt, die *Tiselius* in seinen Studien über die Kataphorese des Serums gebraucht.

Tabelle 2. Übersicht über die normalen Plasmaeiweißkörper des Pferdes.

Elektrophorese		Ultrazentrifuge		Begleitstoffe (an die Eiweiß- molekel adsor- biert bzw. in sie eingebaut)
Bezeich- nung	Wanderungs- geschwindig- keit $u \times 10^5$ $p_H = 8,03$ $\mu = 0,1$	Bezeichnung	Sedimentations- konstante <sup>3</sup> $S_{20} \times 10^{13}$	
Albumin	7,6	A-Komponente	4,7 <sup>1</sup>	Bilirubin
$\alpha$ -Globulin	5,8		nicht nachgewiesen	
$\beta$ -Globulin	4,6	X-Komponente	{ 6,7—6,8 <sup>1</sup> (3,1 und 18)	Phosphatide
		Y <sub>1</sub> -Komponente Y <sub>2</sub> -Komponente (entstehen bei Verdünnung)	{ größer als die A-Komponente <sup>2</sup>	
Fibrinogen		Fibrinogen	nicht bestimmt, aber nachgewiesen	
$\gamma$ -Globulin	1,9	G-Komponente	7,0 <sup>1</sup>	Cholesterin und viele Immunkörper

Aus der Tabelle 2 ergibt sich ferner, daß die einzelnen Eiweißkörper Begleitstoffe enthalten, die an die Proteinmolekel adsorbiert bzw. in sie eingebaut sind. Das Bilirubin wandert z. B. im elektrischen Feld mit dem Albumin, die Phosphatide mit dem  $\beta$ -Globulin, das Serumcholesterin mit dem  $\gamma$ -Globulin. Manche der im Serum vorhandenen Immunkörper gehören jedenfalls teilweise zur Fraktion des  $\gamma$ -Globulins, wie *Tiselius* und seine Mitarbeiter zeigen konnten. In einzelnen Fällen ist der Antikörper auch als besondere Komponente mit einer eigenen zwischen dem  $\beta$ - und dem  $\gamma$ -Globulin gelegenen Wanderungsgeschwindigkeit darstellbar.

Eine von *Tiselius* vermutete weitere Komponente, das sog.  $\delta$ -Band, hat sich von *Longworth* und *McInnes* nicht verifizieren lassen. Dieses Band tritt zwar in konzentrierteren Seren als Schlierenband auf, konnte jedoch von den genannten Autoren auf einen Konzentrationseffekt (*Donnan-Effekt*) in der Pufferlösung zurückgeführt werden. Wegen der Theorie dieser Erscheinung sei auf die Originalarbeit der beiden Untersucher verwiesen.

Aus den Versuchen mit Hilfe der Kataphorese und auch aus Ultrazentrifugenexperimenten (*v. Mutzenbecher, McFarlane*) ergab sich, daß sich durch Aussalzen (Ammonsulfat, Natriumsulfat usw.), d. h. also mit

<sup>1</sup> Nach *Tiselius*: Biochemic. J. 31, 1474 (1937).

<sup>2</sup> Beispiel von *Pedersen*: Die Ultrazentrifuge, S. 361. Das  $\beta$ -Globulin ist also sehr labil und ändert seine Sedimentationskonstante mit der Verdünnung.

<sup>3</sup> Über die Bedeutung der Sedimentationskonstante siehe *Svedberg* und *Pedersen*: Die Ultrazentrifuge.

der bisher fast ausschließlich benützten Technik zur Trennung der Serum-eiweißkörper keine exakte Differenzierung der einzelnen Serumfraktionen erreichen läßt, es sei denn, es wird eine ganz bestimmte präparative Technik zur Darstellung eines einheitlichen Eiweißkörpers angewandt, wie dies z. B. durch *Hewitt* und *Kekwick* bezüglich der krystallisierten Pferdealbumine geschehen ist. Bei einfacher Ammonsulfattfällung enthält der Niederschlag wechselnde Mengen aller Fraktionen (*Tiselius*). Hohe Ammonsulfatkonzentrationen erzeugen zwar einen albuminreichen, niedrige einen globulinreichen Niederschlag; eine 55%ige Salzsättigung fällt aber z. B. Eiweiß aus, das zu 75% aus Albumin und zu 25% aus Globulinen besteht. Es ist hieraus der Schluß zu ziehen, daß alle Untersuchungen über das Verhältnis von Albumin zu Globulin im Serum und im Liquor und die daraus gezogenen klinischen Schlußfolgerungen einer erneuten Nachprüfung bedürfen. Die Elektrophorese und auch die Ultrazentrifugenexperimente erlauben jedenfalls einen wesentlich tieferen Einblick in die physikalisch-chemische Struktur dieser Körperflüssigkeiten als die chemischen Methoden.

Kataphoretische Untersuchungen von *pathologischen* Blutseren liegen bisher nur in sehr geringer Zahl vor, obwohl zweifellos eine gute Ausbeute an Befunden zu erwarten ist. Bei Myelomen scheint das  $\gamma$ -Globulin erheblich vermehrt zu sein (*Kekwick*), bei Pneumonien soll das  $\alpha$ -Globulin quantitativ besonders hervortreten (*Tiselius*). Es handelt sich bei diesen Angaben aber offenbar nur um gelegentliche Versuche ohne besondere Systematik nach klinischen oder pathophysiologischen Gesichtspunkten<sup>1</sup>.

Unsere eigenen zahlreichen kataphoretischen Experimente mit Blutseren in verschiedener Verdünnung hatten die Absicht, das elektrische Verhalten der einzelnen Eiweißkomponenten unter den verschiedensten Bedingungen, insbesondere bei großer Verdünnung möglichst genau kennenzulernen, um die Beziehungen zu den Eiweißkörpern des Liquors zu studieren. Sie verfolgten nicht den Zweck, das Blutserum normaler und pathologischer Herkunft selbst und seine Beziehungen zur Klinik zu untersuchen. Aus unseren Befunden sollen daher keine Schlüsse in dieser Hinsicht gezogen werden.

Die Abb. 5—9 zeigen Schlierenaufnahmen während der Kataphorese von Seren in verschiedener Verdünnung. Auf allen Aufnahmen ist die allmähliche Trennung der einzelnen Fraktionen gut sichtbar. In Abb. 5 sind die Grenzen am schärfsten, weil die Eiweißkonzentration am höchsten ist. Es sind alle vier Komponenten des Serums sichtbar. Bei niedrigerem Eiweißgehalt (Abb. 6—9) verschwindet zunächst das in geringster Menge vorhandene  $\alpha$ -Globulin; die beiden anderen Globuline treten je nach Stellung des Schlierenspalts in immer unschärferen (Abb. 7 und 8) oder

<sup>1</sup> Wir selbst fanden kürzlich eine erhebliche Vermehrung des  $\gamma$ -Globulins bei einigen Infektionskrankheiten.

schmäleren Bändern (Abb. 9) hervor, während das reichlich vertretene Albumin bis zu niedrigen Gesamteiweißkonzentrationen als verhältnismäßig breite Grenze gut sichtbar bleibt. Die Beschriftungen unter den

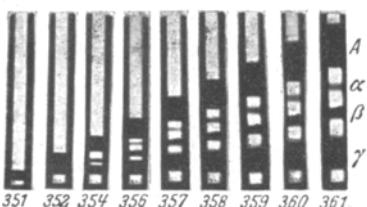


Abb. 5. *Elektrophorese eines Serums. Schlierenaufnahme.* Normales Serum, 1:4 verdünnt. Eiweißgehalt 2240 mg-%, Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,1 und einem  $p_{\text{H}}$  von 8,2. Feldstärke 6,4 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Sämtliche elektrophoretisch im Serum darstellbaren Eiweißkörper sind sichtbar, nämlich das Albumin, das  $\alpha$ -,  $\beta$ - und das  $\gamma$ -Globulin.

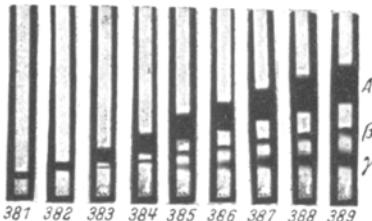


Abb. 6. *Elektrophorese eines Serums. Schlierenaufnahme.* Normales Serum 1:10 verdünnt. Eiweißgehalt 737 mg-%, Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,1 und einem  $p_{\text{H}}$  von 8,2. Feldstärke 4,25 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Bei dieser Verdünnung sind nur noch drei Eiweißkörper darstellbar. Das  $\alpha$ -Globulin ist in dieser Konzentration nicht mehr sichtbar.

Abbildungen geben die Einzelheiten des Versuchs jeweils an. Bei Gesamteiweißkonzentrationen unterhalb 100 mg-% sind entweder wie in Abb. 9 noch 3 Komponenten sichtbar, oder es kommt nur noch das Albumin

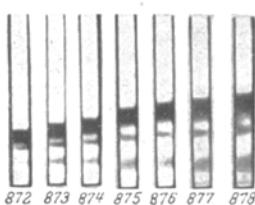


Abb. 7.

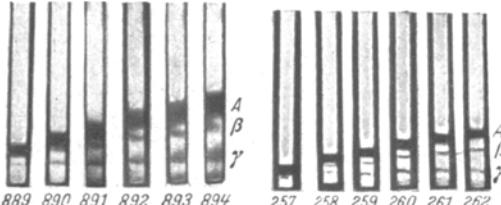


Abb. 8.

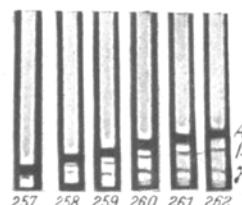


Abb. 9.

Abb. 7. *Elektrophorese eines Serums. Schlierenaufnahme.* Normales Serum, 1:40 verdünnt. Eiweißgehalt 136 mg-%, Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem  $p_{\text{H}}$  von 8,0. Feldstärke 3,3 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Drei Komponenten sind noch sichtbar.

Abb. 8. *Elektrophorese eines Serums. Schlierenaufnahme.* Normales Serum, 1:50 verdünnt. Eiweißgehalt 103 mg-%, Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem  $p_{\text{H}}$  von 7,95. Feldstärke 2,2—3,2 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Drei Komponenten sind noch sichtbar, die Schlierenbänder erscheinen jedoch bei dieser Konzentration wesentlich verwaschener als in Abb. 7.

Abb. 9. *Elektrophorese eines Serums. Schlierenaufnahme.* Normales Serum, 1:100 verdünnt. Eiweißgehalt 70 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,05 und einem  $p_{\text{H}}$  von 8,19. Feldstärke 3,58 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Drei Komponenten sind immer noch sichtbar. Die Schlierenbänder erscheinen hier deswegen scharfer, aber zugleich auch wesentlich schmäler als in Abb. 8, weil die Schlierenblende weiter geöffnet wurde.

zur Darstellung, wie sich bei einigen unserer Versuche ergab. In diesen Fällen sind die Globulingrenzen wegen der geringen Konzentration dieser Fraktionen gegen die immer vorhandenen Wärmekonvektionen

(siehe S. 227) so empfindlich, daß sie, bevor sie optisch erfaßt werden können, zusammenbrechen. Bei niederer Gesamteiweißkonzentration kann es also vorkommen, daß nur die quantitativ am stärksten vertretene Komponente zur Darstellung kommt.

Abb. 10 und 11 geben die quantitative Auswertung der Elektrophoreseversuche nach erfolgter Trennung der Komponenten wieder. Es sind also nicht wie bei den Schlierenaufnahmen der Abb. 5—9 die einzelnen Phasen der Trennung dargestellt, es wird vielmehr nach Differenzierung der einzelnen Komponenten der Strom abgeschaltet, Aufnahmen bei verschiedenen Stellungen des Schlierenspaltes ausgeführt, die Breite der Bänder ausgemessen und diese gegen die Achse der Cuvette aufgetragen. Der Flächeninhalt unter den einzelnen Gipfeln der erhaltenen Kurve ist der Konzentration der betreffenden Komponente proportional (vgl. S. 228). Bei Abb. 10 handelt es sich um ein syphilitisches Serum, das qualitativ von einem normalen nicht abweicht. Quantitativ ist das Hervortreten des  $\beta$ - und vor allem des  $\gamma$ -Globulins bemerkenswert, ohne daß wir daran bindende Schlüsse knüpfen wollen. Abb. 11 zeigt die quantitative Bestimmung der Eiweißkörper in einem Normalserum bei stärkerer Verdünnung, also bei einer Konzentration, wie sie im Liquor häufiger vorkommt.

In Tabelle 3 sind weitere quantitative Auswertungen von Seren verschiedener Herkunft und verschiedener Konzentration zusammengestellt.

Tabelle 3. Quantitative Zusammensetzung verschiedener Blutsera.

Versuch Nr.	Gesamteiweiß in mg-%	Albumin in mg-%	$\beta$ -Globulin in mg-%	$\gamma$ -Globulin in mg-%	Bemerkungen
210	338	264	20	54	
212	338	255	19	64	Gleiches Serum
214	700	567	59	74	
33	700	546	99	55	
222	136	79	16	41	
224	103	66	15	22	
236	312	197	66	49	
238	362	209	56	97	Syphilitisches Serum

Die mengenmäßige Zusammensetzung schwankt beträchtlich, wobei es wie erwähnt offen bleiben muß, welche Einflüsse hierfür verantwortlich zu machen sind. So konnte z. B. nicht geklärt werden, warum in Versuch Nr. 236 das  $\beta$ -Globulin das  $\gamma$ -Globulin mengenmäßig überwiegt. Versuch Nr. 210 und 212, die das gleiche Serum betreffen, geben einen Begriff von den Fehlern der Auswertungsmethode; diese betragen sicher 20—30%, so daß vorerst nur größere Abweichungen von der durchschnittlichen Zusammensetzung als pathologisch gewertet werden können.

Die Tabelle 4 zeigt die Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen Serumkomponenten bei verschiedenen Eiweißkonzentrationen und bei

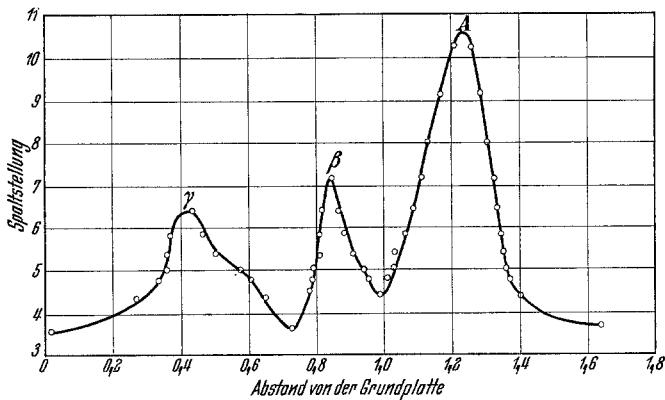


Abb. 10. Quantitative Bestimmung der elektrophoretisch getrennten Eiweißkörper im Serum. 1:20 verdünnt. Diagnose: Lues, WaR. pos. Eiweißgehalt 362 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem  $\text{pH}$  von 8,0. Feldstärke 3,2 Volt  $\times$   $\text{cm}^{-1}$ . Quantitative Auswertung 83 Minuten nach Einschalten des Stromes. Es sind drei Gipfel zu sehen. Der Flächeninhalt unter diesen drei Gipfeln ist der Konzentration der Komponenten proportional. Die planimetrische Ausmessung ergibt: 209 mg-% Albumin, 56 mg-%  $\beta$ -Globulin und 97 mg-%  $\gamma$ -Globulin. Das  $\alpha$ -Globulin ist bei dieser Serumverdünnung nicht mehr darzustellen (vgl. Abb. 6—9).

verschiedenen Ionenstärken, gemessen an der Leitfähigkeit der Pufferlösung, gegen die das Serum dialysiert und mit der sie überschichtet wurde. Da unsere Messungen noch keine Präzisionsmessungen sind —

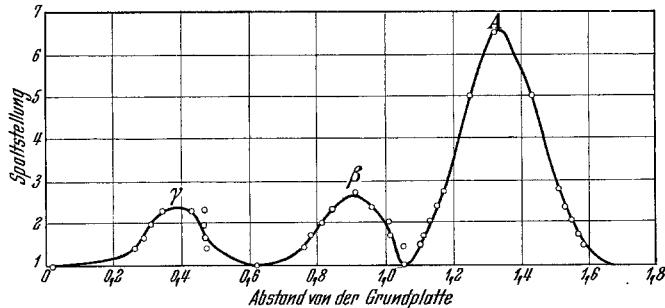


Abb. 11. Quantitative Bestimmung der elektrophoretisch getrennten Eiweißkörper im Serum, 1:50 verdünnt. Eiweißgehalt 103 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem  $\text{pH}$  von 7,95. Feldstärke 3,27 und nach 50 Minuten 2,26 Volt  $\times$   $\text{cm}^{-1}$ . Quantitative Auswertung 73 Minuten nach Einschalten des Stromes. Es sind wieder drei Gipfel zu sehen. Der Flächeninhalt unter diesen drei Gipfeln ist der Konzentration der Komponenten proportional. Die planimetrische Ausmessung ergibt 66 mg-% Albumin, 15 mg-%  $\beta$ -Globulin und 22 mg-%  $\gamma$ -Globulin.

wie schon oben erwähnt, hatten wir den Eindruck, daß sich Kriechströme in der Apparatur nicht immer vermeiden lassen — wurde auf Interpolationen (z. B. Korrektur der  $\text{P}_\text{H}$ -Abhängigkeit der Wanderungsgeschwindigkeiten) verzichtet. Die von uns gefundenen Werte streuen

also nicht unerheblich. Immerhin kommt deutlich heraus, daß bei niederen Gesamteiweißkonzentrationen und bei niederer Leitfähigkeit der Lösung (Versuch 136, 138, 140) eine deutliche Tendenz in Richtung einer schnelleren Wanderungsgeschwindigkeit vorliegt, was nach der elektrolytischen Theorie von *Debeye-Hückel* zu erwarten ist und was von *Tiselius* und *Svensson* am Eieralbumin nachgewiesen wurde. Weitere Gründe für das Streuen der Werte mögen in den verschiedenen Alter der Seren zu suchen sein; ferner scheinen natürlich vorkommende Eiweißlösungen in ihren physikalisch-chemischen Konstanten überhaupt stärker zu streuen als rein dargestellte Substanzen. Das ist auch bei den Ultrazentrifugenversuchen von *McFarlane* deutlich.

Tabelle 4. Übersicht über die Wanderungsgeschwindigkeit menschlicher Blutsera von verschiedener Eiweißkonzentration und bei verschiedener Ionenstärke (bzw. Leitfähigkeit der Pufferlösung).

Versuch Nr.	Eiweiß- konzentra- tion in mg-%	pH der Lösung	Leitfähigkeit der Lösung in $\Omega^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times 10^3$	Absolute Wanderungsgeschwindigkeit in $\text{cm}^2 \times \text{sec}^{-1} \times \text{Volt}^{-1} \times 10^3$			
				Albumin	$\alpha$ - Globulin	$\beta$ - Globulin	$\gamma$ - Globulin
126	2250	8,2	2,8	7,2	4,9	3,5	1,1
128	2240	8,2	2,8	7,0	5,0	3,5	0,9
130	2045	8,2	2,8	7,3	5,1	3,7	1,2
164	1415	8,1	2,8	7,5	—	3,4	1,1
146	835	8,0	1,6	8,2	—	4,5	0,0
134	737	8,2	2,8	8,4	—	4,7	2,1
144	730	8,0	1,6	7,9	—	4,5	0,0
132	715	8,2	2,8	7,4	5,6	4,2	0,0
176	462	8,0	1,2	7,2	—	4,0	0,7
216	300	8,0	—	7,0	—	4,6	—
220	250	8,15	1,1	7,3	—	4,2	0,7
136	154	8,1	0,9	8,7	—	6,5	—
138	156	8,1	0,9	8,8	—	5,8	—
222	136	8,0	1,1	7,3	—	4,2	0,8
178	104	8,3	1,2	8,3	—	—	0,7
224	103	7,9	1,1	7,7	—	4,5	1,0
140	88	7,9	0,4	8,6	—	6,3	2,3
242	75	8,2	1,2	7,9	—	4,5	0,0

## 2. Die Eiweißkörper im Liquor der entzündlichen Polyneuritis.

(Das Liquorsyndrom von *Barré-Guillain*.)

Experimentelle Untersuchungen über die Art der Eiweißkörper beim Syndrom von *Barré-Guillain* liegen bisher nicht vor. Dagegen ist *Bannwarth* in seinen eingehenden Studien über die Polyneuritis auf Grund klinischer und pathologisch-anatomischer Überlegungen zu dem Schluß gekommen, daß die Liquorveränderungen auf einer abnormen Durchlässigkeit der Capillarmembranen infolge einer „serösen“ Entzündung im Sinne *Eppingers* beruhen; d. h. also, die Eiweißkörper des Blutserums stellen das Exsudat des entzündlichen Prozesses dar und gelangen so in den Liquorraum. *Eppinger* hat angenommen, daß bei dieser zellfreien „serösen“ Entzündung vorwiegend das Albumin die Blutbahn verläßt.

Die Kataphorese von Liquores, die das Syndrom von *Barré-Guillain* aufweisen, zeigt nun, daß die eben zitierten Ansichten zu vollem Recht bestehen.

Abb. 12—14 geben Beispiele für die elektrische Trennung der Eiweißkörper in derartigen Rückenmarksflüssigkeiten. Wenn man Abb. 12 etwa mit Abb. 7, die von einem Versuch mit Serum ähnlicher Konzentration stammt, vergleicht, so fällt die große Ähnlichkeit beider Abbildungen ohne weiteres in die Augen. Es finden sich hier 3 Eiweißkomponenten des Serums, nämlich das Albumin, das  $\beta$ -Globulin und das  $\gamma$ -Globulin. In Abb. 12 tritt im Gegensatz zu Abb. 7 die Bande des Albumins stärker hervor, wogegen die beiden Globulinbänder zurücktreten.

Abb. 12. Elektrophorese eines Liquors. Schlierenaufnahme. Diagnose: Schwere Polyneuritis (Barré-Guillain) nach Wundeiterung. Liquorbefund 3/3 Zellen, Mastixkurve I, II, III, IV, VII, VIII, IX, X, VII, V Eiweißgehalt 168 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem pH von 8,3. Feldstärke 2,33 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Neben dem Albumin ist noch das  $\beta$ - und das  $\gamma$ -Globulin sichtbar. Das Albumin überwiegt quantitativ.

Bei geringer Gesamteiweißkonzentration können die beiden Schlieren der Globuline sogar vollständig verschwinden. In Abb. 13 fehlt z. B. das  $\beta$ -Globulin, in Abb. 14 ist nur noch das Albumin sichtbar. Die übrigen Komponenten finden sich offenbar in so geringer Konzentration, daß sie sich der optischen Nachweisbarkeit entziehen. Bei keinem unserer Versuche wurde eine Schliere gefunden,

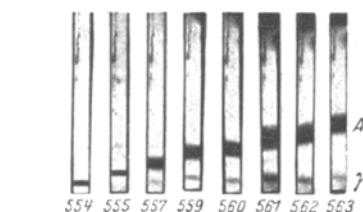


Abb. 13. Elektrophorese eines Liquors. Schlierenaufnahme. Diagnose: Polyneuritis (Barré-Guillain) nach Eiterung. Liquorbefund 3/3 Zellen, Mastixkurve I, II, IV, XI, XI, XI, VI, III, II, I. Eiweißgehalt 120 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem pH von 7,8. Feldstärke 2,6 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Neben dem Albumin ist noch das  $\gamma$ -Globulin sichtbar. Das  $\beta$ -Globulin kommt nicht zur Darstellung.

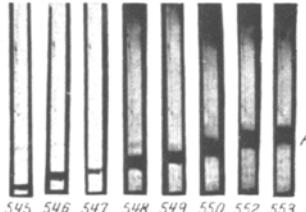


Abb. 14. Elektrophorese eines Liquors. Schlierenaufnahme. Diagnose: Polyneuritis (Barré-Guillain) nach Unterschenkelphlegmone. Liquorbefund 2/3 Zellen, Mastixkurve I, III, VI, IX, VIII, VI, V, III, I, I. Eiweißgehalt 98 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem pH von 7,8. Feldstärke 2,6 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Es ist nur das Albumin sichtbar.

die auf eine neue, im Serum nicht vorkommende Eiweißkomponente verdächtig wäre.

In Tabelle 5 sind die Wanderungsgeschwindigkeiten der im Liquor von entzündlichen Polyneuritiden nachgewiesenen Eiweißkörper verzeichnet.

Tabelle 5. Übersicht über die Wanderungsgeschwindigkeit der Eiweißkörper in Liquores von entzündlichen Polyneuritiden.

Versuch Nr.	Eiweiß- konzentration in mg-%	pH der Lösung	Leitfähigkeit der Lösung in $\Omega^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times 10^3$	Absolute Wanderungsgeschwindigkeit in $\text{cm}^2 \times \text{sec}^{-1} \times \text{Volt}^{-1} \times 10^6$		
				Albumin	$\beta$ - Globulin	$\gamma$ - Globulin
184	168	8,3	1,1	9,3	—	0,8
188	151	8,0	1,2	9,1	5,4	0,2
170	120	7,8	1,1	9,0	—	0,8
166	98	7,8	1,1	8,6	—	—
260	94	8,0	1,3	10,1	—	—
150	90	7,8	0,4	8,5	—	—
160	90	7,9	1,1	8,9	—	—

Es fällt auf, daß das Albumin in einigen Fällen (Versuch Nr. 184, 188, 260) eine deutliche Tendenz hat, etwas schneller zu wandern als im Serum. Dagegen zeigt es in Versuch Nr. 166, 150 und 160 die den Versuchsbedingungen entsprechende Beweglichkeit. Auch das  $\beta$ -Globulin wandert in Versuch Nr. 188 schneller als es dem Durchschnittswert im Serum entspricht, wogegen sich das  $\gamma$ -Globulin durchaus normal verhält. Worauf diese Abweichungen zurückzuführen sind, konnte nicht geklärt werden, und wir möchten eine verfrühte Hypothesenbildung vermeiden. Jedenfalls kann trotz der vorhandenen Streuung der Messungen nicht der geringste Zweifel daran bestehen, daß es sich bei den vorliegenden Eiweißkörpern tatsächlich um Serumeiweiß handelt.

### 3. Die Eiweißkörper des Liquors bei Poliomyelitiden im Reparationsstadium.

Ganz ähnliche Verhältnisse wie beim Syndrom von Barré-Guillain finden sich nun auch bei Poliomyelitiden im Reparationsstadium. Auch hier ist je nach Abklingen des akuten Stadiums die Entzündung mehr oder weniger zellfrei geworden, während das Eiweiß ganz erheblich ansteigen kann. In Abb. 15 und 16 sind die quantitativen Auswertungen von Elektrophoresever suchen mit derartigen Cerebrospinalflüssigkeiten dargestellt. Die Schlierenbilder unterscheiden sich praktisch nicht von

Tabelle 6. Übersicht über die Wanderungsgeschwindigkeit der Eiweißkörper in Liquores von Poliomyelitiden im Reparationsstadium.

Versuch Nr.	Eiweiß- konzentration in mg-%	pH der Lösung	Leitfähigkeit der Lösung in $\Omega^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times 10^3$	Absolute Wanderungsgeschwindigkeit in $\text{cm}^2 \times \text{sec}^{-1} \times \text{Volt}^{-1} \times 10^6$		
				Albumin	$\beta$ - Globulin	$\gamma$ - Globulin
240	312	8,2	1,2	6,7	3,4	0,4
230	110	7,8	1,0	9,2	—	1,2

denen der Abb. 7 und 8 (Seren) und der Abb. 12 (Polyneuritis). Man erkennt an Hand der Abb. 15, daß die einzelnen Serumbestandteile im Liquor etwa im gleichen Verhältnis wie im Blut vertreten sind. Im Gegensatz dazu

überwiegt in dem Fall der Abb. 16 quantitativ das Albumin.

Die Ergebnisse der Messungen, in Tabelle 6 zusammengestellt, zeigen wieder eine erhebliche Streuung der Wertefür das Albumin, während sich  $\beta$ -Globulin und  $\gamma$ -Globulin normal verhalten.

#### 4. Die Liquoreiweißkörper bei Meningitiden.

Über die Herkunft der Eiweißkörper im Liquor von

Abb. 15. Quantitative Bestimmung der elektrophoretisch getrennten Eiweißkörper im Liquor. Diagnose: Poliomyelitis im Reparationsstadium. Liquorbefund 0/3 Zellen, Mastixkurve I, II, III, IV, VI, VIII, IX, VIII, V, III. Eiweißgehalt 312 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem  $\text{pH}$  von 8,1. Feldstärke 2,93 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Quantitative Auswertung 90 Minuten nach Einschalten des Stromes. Die drei Gipfel treten deutlich hervor. Die planimetrische Ausmessung ergibt 216 mg-% Albumin, 54 mg-%  $\beta$ -Globulin und 42 mg-%  $\gamma$ -Globulin.

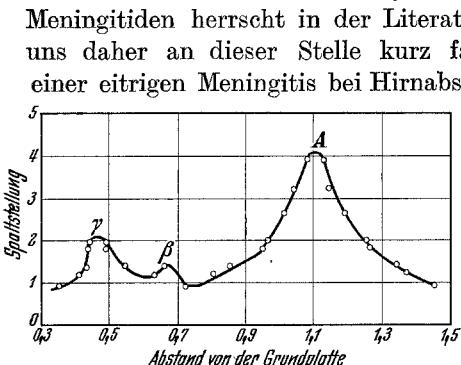


Abb. 16. Quantitative Bestimmung der elektrophoretisch getrennten Eiweißkörper im Liquor. Diagnose: Poliomyelitis im Reparationsstadium. Liquorbefund 63/3 Zellen, Mastixkurve I, II, IV, IX, IX, IX, VI, III, I. Eiweißgehalt 110 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem  $\text{pH}$  von 7,8. Feldstärke 2,31 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Die quantitative Auswertung erfolgte 85 Minuten nach Einschalten des Stromes. Es sind drei Gipfel zu sehen. Der Flächeninhalt unter diesen drei Gipfeln ist der Konzentration der Komponenten proportional. Die planimetrische Ausmessung ergibt 92 mg-% Albumin, 4 mg-%  $\beta$ -Globulin und 14 mg-%  $\gamma$ -Globulin. Das  $\alpha$ -Globulin ist nicht darstellbar.

denen die Herkunft der Eiweißkörper aus dem Blutserum über jedem Zweifel steht, bestätigen eindrucksvoll die oben gegebenen Deutungen. Die Schlierenbilder unterscheiden sich grundsätzlich nicht z. B. von denen der polyneuritischen Liquores, die Fehlerbreite der Messungen ist die gleiche.

die Abb. 18 von einem Serum gleicher Gesamteiweißkonzentration. Die Ähnlichkeit der beiden Abbildungen ist wiederum ohne weiteres einleuchtend, die beiden Globuline treten im Fall der Meningitis wieder zurück, während das Albumin ein breites Band ergibt. Hier ist also ebenfalls das Albumin bevorzugt durch die Capillaren ausgetreten. Etwas ähnliches ergibt sich auch aus Abb. 19, hier ist überdies noch das  $\alpha$ -Globulin deutlich vorhanden. Die Messung der Wanderungsgeschwindigkeiten Tabelle 7 weist wiederum eine gewisse Streuung auf. *Gerade die Versuche mit meningitischen Liquores, bei*

Tabelle 7. Übersicht über die Wanderungsgeschwindigkeit der Eiweißkörper in Liquores von Meningitiden.

Versuch Nr.	Eiweiß- konzentration in mg-%	pH der Lösung	Leitfähigkeit der Lösung in $\Omega^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times 10^3$	Absolute Wanderungsgeschwindigkeit in $\text{cm}^2 \times \text{sec}^{-1} \times \text{Volt}^{-1} \times 10^6$			
				Albumin	$\alpha$ - Globulin	$\beta$ - Globulin	$\gamma$ - Globulin
246	475	7,9	1,1	7,6	—	nicht gemessen	
172	462	8,0	1,2	8,3	—	5,5	0,3
182	236	8,3	1,2	9,4	—	5,3	0,5
186	300	8,0	1,2	9,4	—	6,6	1,4

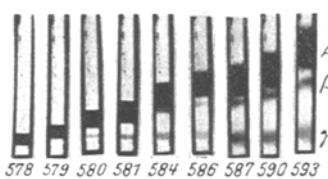


Abb. 17.

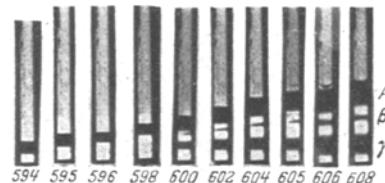


Abb. 18.

Abb. 17. Elektrophorese eines Liquors. Schlierenaufnahme. Diagnose: Eiterige Meningitis bei Hirnabsceß nach Granatsplitterverletzung. Liquorbefund 12800/3 Zellen, vorwiegend Leukocyten. Mastixkurve XII, XII, XII, XII, XII, XII, XII, XI, XI. Zucker 10 mg-%. Eiweißgehalt nach 1:2, Verdünnung 462 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,05 und einem pH von 8,0. Feldstärke 3,03 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Neben dem stark hervortretenden Albumin sind noch das  $\beta$ -Globulin und das  $\gamma$ -Globulin in geringerer Konzentration als im Serum sichtbar. Vgl. die folgende Abbildung, die ein Serum gleichen Eiweißgehaltes darstellt.

Abb. 18. Elektrophorese eines Serums. Schlierenaufnahme. Normales Serum 1:20 verdünnt. Eiweißgehalt 462 mg-%. Gleiche Bedingungen wie in der vorigen Abbildung.

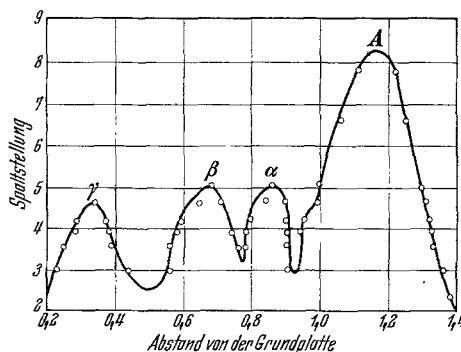


Abb. 19. Quantitative Bestimmung der elektrophoretisch getrennten Eiweißkörper im Liquor. Diagnose: Eiterige Meningitis bei Hirnabsceß. Liquorbefund 35840/3 Zellen, Mastixkurve I, II, III, IV, V, VII, IX, VIII, VI, III. Eiweißgehalt 475 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem pH von 7,9. Feldstärke 2,2—3,3 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Quantitative Auswertung 88 Minuten nach Einschalten des Stromes. Vier Gipfel sind deutlich. Die planimetrische Ausmessung ergibt 283 mg-% Albumin, 50 mg-%  $\alpha$ -Globulin, 81 mg-%  $\beta$ -Globulin und 61 mg-%  $\gamma$ -Globulin.

### 5. Das paralytische Liquorsyndrom.

Bei der progressiven Paralyse liegen im Gegensatz zu den bisher besprochenen entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems völlig andere Verhältnisse vor. Abb. 20 zeigt die Kataphorese eines paralytischen Liquors mit relativ hohen Eiweißwerten. Es kommen zwei Eiweißkörper zur Darstellung, die sich nach ihrer Wanderungsgeschwindigkeit als Albumin und als  $\gamma$ -Globulin identifizieren lassen. An der Breite des Schlierenbandes, das dem nur ganz langsam wandernden  $\gamma$ -Globulin

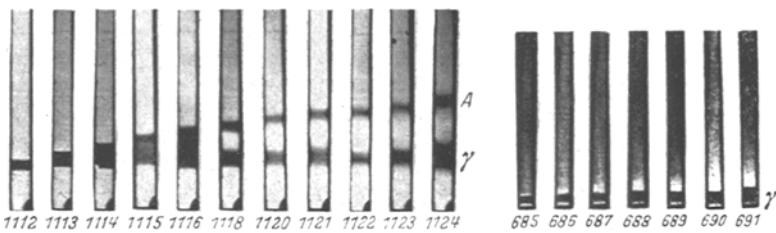


Abb. 20.

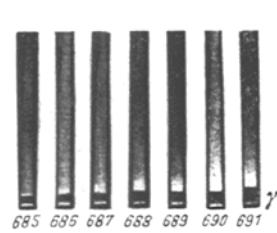


Abb. 21.

Abb. 20. *Elektrophorese eines Liquors. Schlierenaufnahme. Diagnose:* Progressive Paralyse (unbehandelt). Liquorbefund 377/3 Zellen, Mastixkurve I, II, VI, X, XI, XI, XI, X, IX, VIII. Wa.R. stark positiv bei 0,6, MKR II stark positiv. *Eiweißgehalt* 225 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem  $p_H$  von 7,9. Feldstärke 2,46 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Neben dem schneller wandernden Albumin ist ausschließlich das breite Band des  $\gamma$ -Globulins deutlich, besonders gut sichtbar in Aufnahme 1124.

Abb. 21. *Elektrophorese eines Liquors. Schlierenaufnahme. Diagnose:* Progressive Paralyse (unbehandelt). Liquorbefund 32/3 Zellen, Mastixkurve IX, X, XI, XI, XI, XI, XI, X, VI, V. Wa.R. stark positiv bei 0,2, MKR II stark positiv. *Eiweißgehalt* 50 mg-%. Phosphatpuffer einer Ionenstärke von 0,03 und einem  $p_H$  von 8,0. Feldstärke 2,5 bis 2,7 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Aufnahmen im Abstand von 10 Minuten. Es ist ausschließlich das  $\gamma$ -Globulin sichtbar, das praktisch nicht wandert. Vgl. diese Abbildung mit Abb. 9 und 14.

entspricht, erkennt man schon auf Abb. 20 deutlich, daß dieser Eiweißkörper mengenmäßig überwiegt. Auf Abb. 21 ist das  $\gamma$ -Globulin allein zu sehen, die Albuminkomponente ist offenbar nur in so geringer Menge vertreten, daß sie nicht zur Darstellung kommt. Der Gesamteiweißgehalt des Liquors ist mit 50 mg-% erheblich niedriger als der der Abb. 20. Noch eindrucksvoller wird das mengenmäßige Überwiegen des  $\gamma$ -Globulins bei den quantitativen Auswertungen der Abb. 22 und 23, wenn man die hier gewonnenen Kurven mit den entsprechenden weiter oben gezeigten vergleicht. Der dem  $\gamma$ -Globulin zugehörige Gipfel liegt bei allen übrigen Erkrankungen immer tiefer als der des Albumins, der Flächeninhalt unter diesem Kurvenstück ist sonst wesentlich kleiner als der unter dem Albumingipfel, während bei der Paralyse in jedem Fall umgekehrte Verhältnisse vorliegen.

Tabelle 8 gibt eine Übersicht über die Wanderungsgeschwindigkeiten der in paralytischen Liquores gefundenen Eiweißkörper. Auch hier fällt wieder die Streuung der Werte, besonders des Albumins auf. Zweimal

wurde auch  $\beta$ -Globulin gefunden. In keinem Fall ergab sich aber irgend ein Anhalt für das Vorhandensein eines Eiweißkörpers, der *andere* elektro-chemische Eigen-schaften hätte als die Serum-pröteine. Dies ist von be-sonderer Bedeutung für die von vielen Untersuchern aufgeworfene Frage, ob nicht aus dem Gehirn stam-mendes Eiweiß durch den bei der Paralyse vorhan-den Substanzabbau die-ses Organs in den Liquor gelangt. Auf Grund unserer Untersuchungen erscheint es sicher, daß dies nicht oder doch nur in so un-

bedeutendem Ausmaß der Fall ist, daß die proteinartigen hochmole-kularen Gehirnabbauprodukte mengenmäßig keine Rolle spielen. Denn in eiweißhaltigen Gewebsextrakten sind Substanzen mit bestimmten elektrochemischen Eigenschaften zu erwarten, die von denen der Serum-eiweißkörper abweichen. Die Organe enthalten z. B. Ge-rüsteiweiß, das in seiner mole-kularen Anordnung völlig anders aufgebaut ist als die kugelförmigen Serumproteinteilchen.

Das Gerüsteiweiß besitzt netz-förmige oder fadenförmige Struk-tur. *Shipley, Stern* und *White* haben solche Proteine anlässlich ihrer Studien über Hypophysen-extrakte gefunden und katapho-retisch untersucht. Die Eiweiß-körper im Liquor der progressiven Paralyse sind also Serum-eiweiß-körper, und es ist der Schluß zwingend, daß sie aus dem Blut stammen. Dieser Schluß wird durch ein einfaches Experiment noch überzeugender. Wenn man bei Paralytikern große Mengen Liquor (etwa 100 ccm) durch eine Punktions-entfernt und nach einigen Tagen repunktiert, so ist der Eiweißgehalt meist höher als bei der ersten Ent-

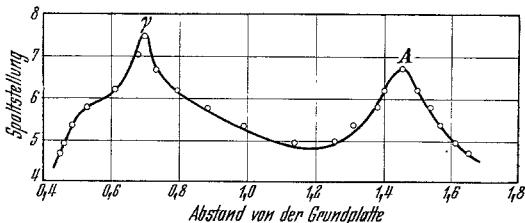


Abb. 22. Quantitative Bestimmung der elektrophoretisch getrennten Eiweißkörper im Liquor-Diagnose: Progressive Paralyse, gleicher Fall wie in Abb. 20. Eiweißgehalt 225 mg-%, im übrigen gleiche Bedingungen wie in Abb. 20. Quantitative Auswertung 100 Minuten nach Einschalten des Stromes. Der Flächeninhalt unter den beiden Gipfeln ist der Konzentration der Komponenten proportional. Die planimetrische Ausmessung ergibt 80 mg-% Albumin und 145 mg-%  $\gamma$ -Globulin.

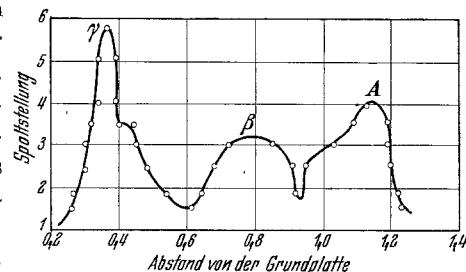


Abb. 23. Quantitative Bestimmung der elektrophoretisch getrennten Eiweißkörper im Liquor-Diagnose: Progressive Paralyse, vor 2 Jahren erstmalig Malaria behandelt, Liquor nicht saniert. Liquorbefund 213/3 Zellen. Mastixkurve VI, VI, VIII, IX, XI, XI, XI, X, IX, VII. Wa.R. stark positiv bei 0,2, MKR II stark positiv. Eiweißgehalt 97 mg %. Phosphatpuffer einer Tonenstärke von 0,03 und einem  $p_H$  von 7,9. Feldstärke 2,28 Volt  $\times$  cm $^{-1}$ . Quantitative Auswertung 80 Minuten nach Einschalten des Stromes. Es sind drei Gipfel zu sehen. Der Flächeninhalt unter diesen drei Gipfeln ist der Konzentration der Komponen-ten proportional. Die planimetrische Ausmes-sung ergibt 36 mg-% Albumin, 25 mg-%  $\beta$ -Globulin und 36 mg-%  $\gamma$ -Globulin.

Tabelle 8. Übersicht über die Wanderungsgeschwindigkeit der Eiweißkörper in paralytischen Liquores.

Versuch Nr.	Eiweiß- konzentration in mg-%	pH der Lösung	Leitfähigkeit der Lösung in $\Omega^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times 10^3$	Absolute Wanderungsgeschwindigkeit in $\text{cm}^2 \times \text{sec}^{-1} \times \text{Volt}^{-1} \times 10^5$		
				Albumin	$\beta$ - Globulin	$\gamma$ - Globulin
258	225	7,9	1,2	7,9	—	1,5
180	113	8,3	1,2	10,2	—	0,7
244	97	7,9	1,0	9,1	5,5	1,5
228	94	7,9	1,1	10,5	4,4	1,2
226	81	8,0	1,3	7,7	—	0,8
116	60	7,9	1,6	10,1	—	2,6
190	50	8,0	1,1	—	—	0,7

nahme. Aber auch dann überwiegt wieder das  $\gamma$ -Globulin. Es ist ganz ausgeschlossen, daß in der kurzen Zeitspanne zwischen den beiden Punktionen die positive Eiweißbilanz im Liquor durch den Gehirnabbau bestritten wurde. *Es gelangen vielmehr infolge der spezifischen syphilitischen Gefäßerkrankung Serum eiweißkörper vermehrt in den Subarachnoidalraum, und zwar ist die Permeabilitätsstörung derart, daß das höher molekulare  $\gamma$ -Globulin im Gegensatz zum kleineren Albuminmolekül bevorzugt hindurchtritt.*

Mit dieser Feststellung erhält auch das sogenannte *Lipoidproblem* im Liquor ein neues Gesicht. Das Cholesterin wandert nach den Befunden von *Tiselius* mit dem  $\gamma$ -Globulin, die Phosphatide mit dem  $\beta$ -Globulin. Aus einer Cholesterin- bzw. Phosphatidvermehrung im Liquor lassen sich also ebenfalls keine Rückschlüsse auf irgendwelche Gehirnabbauvorgänge bei der Paralyse ziehen.

Die syphilitischen Antikörper fanden wir, von einer Ausnahme abgesehen, die auf einen technischen Fehler zurückzuführen ist, immer in der  $\gamma$ -Globulinfaktion des paralytischen Liquors. Es wäre möglich, daß sich diese *Wassermann*-Antikörper vom  $\gamma$ -Globulin trennen lassen und einen elektrochemisch bestimmt charakterisierten Eiweißkörper darstellen. Bisher ist uns aber der Nachweis einer für diese Reagine eigenen Schlierengrenze nicht geglückt, wenn man mitunter auch den Eindruck hat, daß sich in der  $\gamma$ -Globulin-Schliere des paralytischen Liquors noch ein zweiter Gipfel verbirgt.

Der treppenförmige Absatz der Kurve in der quantitativen Auswertung der Abb. 22 entspricht möglicherweise einem Protein, das eine ähnliche Wanderungsgeschwindigkeit hat wie das  $\gamma$ -Globulin. Diese Frage, sowie die nach der intramuralen Entstehung der syphilitischen Antikörper muß also vorerst noch offen bleiben und soll zum Gegenstand einer besonderen Studie gemacht werden.

#### D. Zum Problem der Permeabilität bzw. der Blut-Liquorschranke.

Im Anschluß an die Ergebnisse dieser Arbeit, die naturgemäß durch ausgedehnte Untersuchungen noch weiter vervollständigt werden müssen,

sollen einige Bemerkungen über das Problem der Blut-Liquorschranke bzw. der Permeabilität folgen. Es kann nicht unsere Absicht sein, an dieser Stelle die außerordentlich umfangreiche Literatur kritisch zu mustern und vor allem die vielen Irrwege, die begangen wurden, im einzelnen darzustellen. Es sei nur an *einen* derartigen Irrweg erinnert, nämlich an die Prüfung der Blut-Liquorschranke mit Bromsalzen nach *Walter*. Sie führte einige Autoren zu sehr weittragenden klinischen und pathophysiologischen Schlußfolgerungen. Dabei konnte *Frey* eindeutig zeigen, daß der Bromidnachweis nach *Walter* auf einer chemisch ganz unzureichenden Methode beruht. Mit dieser Feststellung erübrigt sich jede weitere Diskussion. Aber auch wenn man von derartigen groben methodischen Irrtümern absieht, so gewinnt man beim Lesen des umfangreichen Schrifttums über die Blut-Liquorschranke die Überzeugung, daß grundsätzlich falsche Vorstellungen oder schiefe Fragestellungen eine erhebliche Verwirrung gestiftet haben. Es sei daher erlaubt, kurz zu einigen wesentlichen Problemen Stellung zu nehmen, und zwar nach Gesichtspunkten, die bisher in den Diskussionen fast ganz zurückgetreten sind.

Das anatomische Substrat der Blut-Liquorschranke wird durch die Capillaren des Plexus choroideus und die Meningealcapillaren dargestellt. Die Membranen dieser Capillaren bzw. das Plexusepithel sind es also, durch die sich die Austauschvorgänge abspielen. Über den Feinbau derartiger Hämpe wissen wir nun heute schon einiges. Es handelt sich um ein Netzwerk, dessen Fäden aus den Hauptvalenzketten der die Eiweißkörper aufbauenden Aminosäuren bestehen. Die Fäden werden also durch die Bindung  $\dots R_1-COHN-R_2\dots$  zusammengehalten. Darüber hinaus sind noch Säureimid- und Querverbindungen, wie sie beim Keratin von *Astbury* nachgewiesen wurden, denkbar. Dieses fädige Eiweißgerüst ist von *Wolpers* vor einiger Zeit elektronenoptisch an der Erythrocytenmembran dargestellt worden. In diesem Gerüstwerk aus langfädigen Eiweißteilchen sind nun Lipoide als Zwischensubstanzen eingelagert (*Wolpers*), so daß also eine mosaikartige Struktur der tierischen Membranen vorliegt, wie schon die Physiologen z. B. *Mond* angenommen hatten. Wenn diese Vorstellung vorerst auch nur für die Erythrocytenmembran gelten, so haben wir doch Ursache zu der Annahme, daß andere tierische Membranen im Grundprinzip einen ähnlichen, vielleicht im einzelnen verwickelteren Bau aufweisen.

Durch die Maschen des von den Hauptvalenzketten der Eiweißfadenmoleküle gebildeten Netzes und durch die mosaikartig in dieses Gerüst eingelagerten Lipoide hindurch geschieht nun der Stoffaustausch. Eine Reihe von Effekten, die an „toten“ Modellmembranen beobachtet wurden, scheinen dabei bedeutsam zu sein.

1. Am einfachsten verständlich ist der sog. *Siebeffekt*. Sind die Maschen des Netzwerkes zu klein im Verhältnis zur Größe eines Teilchens,

das die Membran passieren will, dann wird es von dieser zurückgehalten. Niedermolekulare Stoffe müssen also wesentlich leichter permeieren als hochmolekulare, was mit der Erfahrung der Liquorphysiologie übereinstimmt. Unter normalen Verhältnissen ist der Eiweißgehalt im Liquor außerordentlich gering, so daß diese Flüssigkeit in erster Näherung als eiweißfrei betrachtet werden kann. Wie in der nächsten Mitteilung gezeigt wird, finden wir in der Rückenmarksflüssigkeit niedermolekulare Stoffe bis zu einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 200, während die Serum eiweißkörper ein solches von 70 000 bis 176 000 besitzen. Normalerweise werden also die erheblich größeren Eiweißteilchen von der Membran wie ein Sieb zurückgehalten. Daß aber dieser Siebeffekt keinesfalls ausreicht, allein die pathologischen Permeabilitätsänderungen zu verstehen, wird weiter unten gezeigt werden.

2. An „toten“ Modellmembranen wird der Siebeffekt überlagert und modifiziert durch *elektrische Erscheinungen*. Die Hauptvalenzketten des Maschenwerks tragen positiv und negativ geladene Seitengruppen, also ortsfeste Ionen. Unter diesen Umständen können derartige ortsfeste Ionen elektrisch gleichsinnig geladene Teilchen abstoßen und dadurch ihren Durchgang durch die Membran ver- bzw. behindern, obwohl sie an sich die hierzu passende Größe hätten. Friedmann hat bei seinen Farbstoffversuchen auf die Bedeutung der elektrischen Ladung für das Permeabilitätsproblem der Blut-Liquorschanke hingewiesen. Die Behinderung einer bestimmten Ionenart in der Lösung durch die ortsfesten Ionen der Membran kann so weit gehen, daß diese Ionenart überhaupt nicht mehr durchgelassen wird. Eine solche Membran ist dann ausschließlich kationen- bzw. anionenpermeabel.

3. In der Physiologie wird nun noch ein dritter Effekt hervorgehoben, der bei der Permeabilität von lebenden Membranen eine besonders wichtige Rolle spielen soll, nämlich die *Affinität der Membran zu den in Frage kommenden Körpern*. Ist z. B. ein bestimmter Stoff in der Substanz der Membran löslich, so wird er sich in ihr anreichern und sie auf diese Weise durchdringen. Es wird angenommen, daß die Lipoide, die in der Eiweißmembran in der oben geschilderten Weise eingelagert sind, bei diesem Löslichkeitseffekt wichtige Dienste leisten, z. B. den leichten Durchtritt von  $\text{CO}_2$  durch Gefäßwände ermöglichen (Wehrli-Hegner und Wys)<sup>1</sup>.

4. Werden durch eine Membran elektrisch geladene Teilchen wie etwa Eiweißkörper zurückgehalten, so kommt es zu einer charakteristischen Verschiebung der übrigen Elektrolyte. (*Donnan-Effekt*). Über diesen *Donnan-Effekt* ist in der Literatur der Blut-Liquorschanke

<sup>1</sup> Kohlensäure permeiert durch Gefäßwände nur in *undissoziiertem* Zustand, als gelöste  $\text{CO}_2$ -Molekel, die in Lipoiden löslich sind. Die Ionen  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{CO}_3^{2-}$  gehen durch Gefäßmembranen nicht hindurch.

außerordentlich viel diskutiert worden, so daß wir uns Einzelheiten an dieser Stelle sparen können.

Mit dieser Aufzählung einer Reihe von Effekten, die bei dem Stoffaustausch durch Membranen bedeutungsvoll sind, lassen sich viele künstliche Modellmembranen in erster Näherung jedenfalls beschreiben. Auch bei der Permeabilität der Blut-Liquorschanke spielen die geschilderten Effekte zweifellos eine Rolle. Auf die Bedeutung des Siebeffektes wurde bereits hingewiesen. Die Verteilung des Chloridions zwischen Blut und Liquor läßt sich unter Berücksichtigung der von *Donnan* aufgestellten Formeln ebenfalls ohne weiteres erklären. Beim Eiweiß und beim Chlorid liegen also unter normalen Bedingungen ähnliche Verhältnisse vor, wie wir sie bei den Modellmembranen finden. Auch der Durchtritt des  $\text{CO}_2$ -Moleküls folgt den einfachen Diffusionsgesetzen.

Ganz anders liegen die Dinge z. B. beim Zucker. Die Verteilung des Zuckers zwischen Blut und Liquor läßt sich durch keinen der geschilderten Effekte erklären, obwohl bekannt ist, daß die Höhe des Blutzuckers auch die des Liquorzuckers bestimmt. Es ist naheliegend, hier an Erscheinungen zu denken, die an den bisherigen Modellmembranen nicht beobachtet wurden. Weitere Untersuchungen würden wahrscheinlich eine ganze Reihe derartiger noch unbekannter Effekte aufdecken. Der Durchtritt des Zuckers durch eine tierische Membran könnte z. B. über den Weg einer Phosphorylierung erfolgen, in ähnlicher Weise wie die Zuckerresorption in der Niere und im Dickdarm zustande kommt. Es wäre also das Vorhandensein eines bestimmten Fermentsystems in der Membran anzunehmen.

Aus dem Gesagten ergibt sich übrigens, daß die in der Liquorphysiologie so oft in Form eines „entweder-oder“ gestellte Frage, nämlich Ultrafiltration oder vitaler Vorgang der Mannigfaltigkeit der Probleme in keiner Weise gerecht wird. Bisher ist es sicher nicht möglich, das Permeabilitätsproblem mit Hilfe der wenigen heute bekannten Effekte zu lösen. Durch Annahme eines „Vitalvorganges“ wird in die ganze Fragestellung aber nur eine Unbekannte eingeführt die alles und nichts erklärt.

Bei unserem unvollständigen Wissen über die normale und pathologische Durchlässigkeit der Blut-Liquorschanke ist es zweckmäßig, zunächst den *einfachsten* Erscheinungen nachzugehen. Die Permeabilität der niedermolekularen Stoffe gehorcht offensichtlich oft verwickelten und teilweise noch unbekannten Gesetzmäßigkeiten, so daß sich heute im allgemeinen keine sicheren Aussagen darüber machen lassen, ob und wann unter pathologischen Verhältnissen eine gesteigerte oder erniedrigte Durchlässigkeit der Blut-Liquorschanke für sie vorliegt. Das ist bei den hochmolekularen Eiweißkörpern nicht der Fall, für die normalerweise die Gefäßmembranen im Zentralnervensystem fast völlig dicht sind.

Wenn wir nun durch unsere Untersuchungen nachweisen konnten, daß bei vielen entzündlichen Erkrankungen Bluteiweißkörper vermehrt im Liquor erscheinen, so wird man mit vollem Recht von einer erhöhten Permeabilität der Gefäßmembranen unter diesen pathologischen Bedingungen sprechen dürfen. *Die Natur nimmt also hier die Permeabilitätsprüfung gewissermaßen selbst vor.* Es wäre ganz unsinnig, diese erhöhte Permeabilität etwa mit Hilfe von körperfremden niedermolekularen Stoffen, deren Gesetze für den Durchtritt durch die Blut-Liquorschanke unbekannt sind, noch ausdrücklich bestätigen zu wollen.

Wenn eine Membran, die normalerweise als Molekülsieb für die großen Eiweißmoleküle wirkt, unter pathologischen Bedingungen eine derartige Steigerung ihrer Durchlässigkeit erfährt, so wird man eine tiefgreifende Änderung ihres Aufbaues vermuten dürfen. Daß wir im gewöhnlichen Lichtmikroskop verhältnismäßig wenig von dieser Strukturänderung zu sehen bekommen, liegt an der Größenordnung, in der sich die pathologischen Vorgänge abspielen. Diese ist unterhalb der Sichtbarkeitsgrenze des Lichtmikroskops in molekularen Dimensionen gelegen. Wahrscheinlich ist das Elektronenmikroskop berufen, uns eines Tages Einblick in dieses noch ganz unbekannte Reich pathologischer Vorgänge zu verschaffen. Vorläufig sind wir nur auf Vermutungen angewiesen.

Es wäre z. B. möglich, daß unter dem Einfluß der Entzündung Bindungen im Eiweißnetzwerk der Membran gesprengt oder aufgerissen werden, so daß nun infolge der größeren Maschen auch größere Partikel hindurchtreten können. Es wäre dann zu erwarten, daß die kleineren Albuminteilchen (Molekulargewicht 70 000) bevorzugt die Membran passieren oder daß jedenfalls die Globuline (Molekulargewicht 176 000) mengenmäßig im Liquor nicht hervortreten. In der Tat stimmt die Beobachtung bei einer Reihe von entzündlichen Erkrankungen (Polyneuritis, Meningitis, Poliomyelitis) mit dieser Erwartung überein. Dagegen stellt die progressive Paralyse eine eindeutige Ausnahme dar, da hier das  $\gamma$ -Globulin die erkrankten Gefäßmembranen besonders leicht durchdringt. In diesem Fall haben also die Erklärungsversuche mit Hilfe eines reinen Siebeffektes ihre Grenze. Auch die übrigen oben aufgezählten Effekte ergeben kein befriedigendes Verständnis, wie man auf Grund des elektrochemischen Verhaltens des  $\gamma$ -Globulins und auf Grund seiner Löslichkeit ohne weiteres einsieht. Es ist sehr wahrscheinlich, daß hier die sicher anzunehmende Maschenvergrößerung in dem Molekülsieb der Capillarmembran durch eine uns noch unbekannte und für die Paralyse charakteristische Erscheinung überlagert wird.

Auf jeden Fall wird aus diesen Überlegungen deutlich, daß die Probleme der Permeabilität der Blut-Liquorschanke bei entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems einmünden in die allgemeine Pathologie der Entzündung, deren Physiologie sich wegen der Einfachheit der Liquorentnahme besonders leicht am Nervensystem studieren läßt.

Liquordiagnostik der entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems heißt nichts anderes als pathologische Physiologie der meningealen und cerebralen Capillaren treiben, wie schon vor uns *Bannwarth* anläßlich seiner eingehenden Studien über den Symptomenkomplex *Barré-Guillain* bei Polyneuritiden zeigen konnte, ausgehend von rein klinischen und allgemein pathologischen Erwägungen.

Zum Schluß sei noch einiges über die Permeabilität der nichteiweißhaltigen, aber mit dem Eiweiß vergesellschafteten Stoffe gesagt, nämlich über das Cholesterin und die Phosphatide. Wie unter anderem die schwedische Schule in Upsala zeigen konnte, sind das Cholesterin an das  $\gamma$ -Globulin und die Phosphatide an das  $\beta$ -Globulin gebunden. (Lipoid-symplexe.) Es ist sehr naheliegend, anzunehmen, daß diese beiden Substanzen mit den entsprechenden Eiweißkörpern in den Liquorraum hindurchtreten. Damit würden sich alle Rückschlüsse auf Gehirnabbau, die an das Auftreten der Lipoide oder des Cholesterins im Liquor geknüpft wurden, als irrig erweisen.

### Zusammenfassung.

1. *Mit Hilfe der Kataphoreseapparatur nach Tiselius gelingt es, einen umfassenden Überblick über die im Liquor cerebrospinalis vorkommenden Eiweißkörper zu gewinnen.* Diese Eiweißkörper können auf elektrischem Wege getrennt und durch ihre Wanderungsgeschwindigkeit charakterisiert werden. Mit den bisher verwandten Methoden war weder eine exakte Trennung noch eine genaue Charakterisierung der Proteine im Liquor möglich. Das gilt insbesondere auch für die Ammonsulfattfällung, ebenso für die Kolloidreaktionen, denen komplizierte und noch wenig übersichtliche Vorgänge zugrunde liegen.

2. *Es konnten bei entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems ausschließlich die im Blutplasma vorhandenen Eiweißkörper in der Cerebrospinalflüssigkeit nachgewiesen werden*, nämlich das Albumin, das  $\alpha$ -Globulin, das  $\beta$ -Globulin und das  $\gamma$ -Globulin. Diese Proteine gelangen also infolge des entzündlichen Prozesses aus den meningealen und cerebralen Capillaren in den Liquor. *Die Liquordiagnostik stellt also bei entzündlichen Erkrankungen nichts weiter dar als eine Untersuchung des entzündlichen Exsudates.* Eiweißkörper oder andere hochmolekulare Substanzen, die auf Gehirnabbauprodukte verdächtig wären, wurden nicht gefunden.

3. *Die quantitative Zusammensetzung des entzündlichen Exsudates ist bei den einzelnen Erkrankungen deutlich verschieden.* Bei Polyneuritiden, bei eitrigen Meningitiden und ebenso im Reparationsstadium der Poliomyelitis tritt vorwiegend das Albumin durch die Capillarwände, bei der Paralyse mengenmäßig in erster Linie das  $\gamma$ -Globulin. Dieses Ergebnis ist für die allgemeine Pathologie und die Lehre von der Entzündung von großer Bedeutung.

4. Mit den bisher bekannten an Membranen auftretenden Effekten (Siebeffekt, elektrische Erscheinungen, auswählende Löslichkeit) ist dieses Verhalten nicht vollständig zu erklären. Insbesondere bleibt die Frage unbeantwortet, warum bei der Paralyse das  $\gamma$ -Globulin so bevorzugt durch die Capillarwände hindurchtritt, obwohl es ein wesentlich höheres Molekulargewicht hat als das Albumin.

5. Die erhöhte Durchlässigkeit der Capillarmembranen, die bei entzündlichen Prozessen den Übertritt von hochmolekularen Substanzen gestatten, sowie die quantitativ *verschiedene* Permeabilität für die Eiweißfraktionen bei den einzelnen Erkrankungen weisen auf *Unterschiede im submikroskopischen Feinbau der erkrankten Capillarwände hin*. Die pathologische Veränderung dieser Capillarmembranen beruht möglicherweise auf einer Sprengung von Nebenvalenzbindungen mit Vergrößerung der Maschen im Netzwerk der Haut. Vielleicht tritt bei der Paralyse noch ein andersartiger Umbau auf, der die erhöhte  $\gamma$ -Globulin-Durchlässigkeit erklärt. Dieser Umbau der normalen Struktur spielt sich größtenteils in einem Gebiet ab, das unser gewöhnliches Lichtmikroskop nicht mehr aufzulösen vermag, d. h. im Gebiet der Dimensionen der Eiweißmoleküle. *Vielleicht ist das Elektronenmikroskop berufen, uns Einblick in dieses noch völlig unerschlossene Gebiet der subhistologischen pathologischen Strukturänderungen zu verschaffen.* Nach erfolgreicher Lösung dieser Aufgabe können sich Morphologie und pathologische Physiologie die Hände reichen und zu dem Ausbau einer wirklich umfassenden Lehre von der Entzündung gelangen, wobei die physikalische Chemie der Eiweißkörper die Grundlage abgeben wird.

#### Literaturverzeichnis:

- Bannwarth, A.: Arch. f. Psychiatr. **113**, 284 (1941); **115**, 566 (1943). — Eppinger, Kaunitz u. Popper: Die seröse Entzündung. Wien 1935. — Frey, E.: Arch. f. exper. Path. **163**, 399 (1932). — Hesselvik, L.: Hoppe-Seylers Z. **254**, 144 (1938). — Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **82**, 151 (1939). — Acta med. scand. (Stockh.) **101**, 461 (1939). — Hinsberg, K. u. K. Lang: Medizinische Chemie. Berlin u. Wien 1938. — Kekwick, R. A.: Proc. Faraday Soc. **35**, 47 (1940). — Longworth, L. G. and D. A. McInnes: Chem. Rev. **24**, 271 (1939). — McFarlane, A. S.: Biochemic. J. **29**, 660, 1175 (1935). — Mond, R.: Pflügers Arch. **217**, 618 (1927). — Mutzenbecher, P. v.: Biochem. Z. **266**, 226 (1933). — Roeder, F. u. O. Rehm: Die Cerebrospinalflüssigkeit. Berlin 1942. — Tiselius, A.: Kolloid.-Z. **85**, 129 (1938). — Trans. Faraday Soc. **33**, 524 (1937). — Biochemic. J. **31**, 313, 1464 (1937). — Nova Acta Regiae Soc. Sci. Upsaliensis, IV, Vol. 7, Nr 4 (1930). — Tiselius, A. and F. Horsfall: J. of exper. Med. **69**, 83 (1939). — Tiselius, A. and E. A. Kabat: J. of exper. Med. **69**, 119 (1939). — Tiselius, A. and H. Svensson: Trans. Faraday Soc. **35**, 16 (1940). — Shipley, R. A., K. G. Stern and A. White: J. of exper. Med. **69**, 785 (1939). — Wehrli-Hegner, J. u. D. A. M. Wyss: Biochem. Z. **266**, 46 (1933). — Wolpers, C.: Naturwiss. **29**, 416 (1941).