

ÜBER EINE NEUE OXYDATIONSREAKTION DES LIQUOR CEREBROSPINALIS.

Von

Prof. Dr. LADISLAUS BENEDEK
und Assistenten Dr. EUGEN V. THURZÓ.

9/16

Aus der Klinik für Nervenheilkunde und Psychiatrie der kgl. ungar. Stefan Tisza-Universität in Debreczen (Vorstand: Prof. Dr. LADISLAUS BENEDEK).

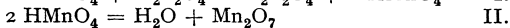
In der Liquordiagnostik geschieht die Bestimmung der pathognomischen Eigenschaften bei den meisten Untersuchungsmethoden durch die quantitative und qualitative Prüfung der Liquoreiweiße. Die verschiedenen physikalischen und chemischen Methoden zur Untersuchung der Proteine gewannen auch in der Liquordiagnostik eine Anwendung zur Prüfung der Liquoreiweiße. Auf Grund der Fällbarkeit läßt sich der Eiweißgehalt des Liquors gravimetrisch oder mit Hilfe eines empirisch bestimmten, gravimetrisch kontrollierten Skalensystems bestimmen. Solche Methoden sind die *Sicard-Cantaloupsche*, die *Nisslsche* und die diaphanometrische. Auf das verschiedene Verhalten der einzelnen Liquoreiweißfraktionen den eiweißfällenden Substanzen gegenüber beruhen die sog. Globulinreaktionen. Bei den Kolloidreaktionen wird das Verhalten der einzelnen Eiweißfraktionen künstlichen Kolloidlösungen gegenüber untersucht. Diese Untersuchungsmethoden erfreuen sich in der allgemeinen klinischen Praxis einer großen Verbreitung. Das Verhalten der Liquoreiweiße hinsichtlich der Dialysation, Elektrophorese, Refraktometrie, Osmose und Kataphorese bildet vorläufig noch Gegenstand theoretischer Untersuchungen.

Die beschleunigende Wirkung der Liquoreiweiße und im allgemeinen der Proteine auf die Reaktionszeit der einzelnen chemischen Reaktionen wurde bisher noch nicht untersucht. In der quantitativen chemischen Analyse findet bekanntlich die Oxalsäure als ein Reduktions-, das Kaliumpermanganat als ein energisches Oxydationsmittel Anwendung.

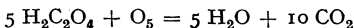
In unserem Laboratorium haben wir das Verhalten der Liquoreiweißkolloide mit einer Mischung, bestehend aus der Suspension feinverteilter Kohle (Carcolid, E. MERCK) und einer Farblösung untersucht, in verschiedenen salzigen und sauren Elektrolytmedien. Wir hatten nun die Beobachtung gemacht, daß die Kohlensuspension die chemische Reaktion zwischen den 1proz. Lösungen von Oxalsäure und Kaliumpermanganat hochgradig beschleunigt, indem die Permanganatlösung sich viel schneller



entfärbt als ohne Kohlensuspension. Der chemische Prozeß spielt sich nach folgenden Formeln ab:



Die der dritten Formel gemäß aus dem Kaliumpermanganat freiwerdenden 5 Atome Oxygen reagieren mit der eventuell noch vorhandenen Oxalsäure:



Wie ersichtlich, wird die Oxalsäure, wenn man sie mit Kaliumpermanganat zusammenbringt, von diesem zu Wasser und Kohlendioxyd oxydiert und das Permanganat entfärbt sich. Das Manganoxyd fällt sich nicht aus, sondern wird durch die überschüssige Oxalsäure in Manganoxalat übergeführt und die kleine Menge von Manganoxalat bleibt in Lösung. Die vollkommen entfärbte Flüssigkeit reagiert stark sauer, die Oxalsäure wurde also nur zum Teil oxydiert.

Der beschriebene Prozeß spielt sich in Gegenwart von Carcolid-suspension viel schneller ab. Die Kohlensuspension bewirkt das Freiwerden des Sauerstoffs, beschleunigt die Reaktion, wirkt also katalytisch. Auf Grund theoretischer Überlegungen haben wir die Versuche in der Richtung fortgesetzt, ob die Liquorkolloide nicht ebenfalls eine katalytische Wirkung auf den in Rede stehenden chemischen Prozeß ausüben würden. *Unsere Untersuchungen zeigten, daß normale und pathologische Liquoren in dieser Hinsicht sich different verhalten.* 1 ccm 1proz. Oxalsäure + 0,05 ccm Kal. permanganat werden binnen 30 Min. wasserklar. Normale Liquore beschleunigen den Prozeß nur im geringen, pathologische aber im hohen Grade.

Auf Grund dieses differenten Verhaltens haben wir nach langen Versuchen eine auch diagnostisch brauchbare Methode zur Liquoruntersuchung ausgearbeitet. In dieser vorläufigen Mitteilung wollen wir nur das Wesen der Methode und ihre theoretische Erklärung beleuchten.

Zu der Reaktion werden benötigt:

1. 1 proz. Kaliumpermanganatlösung.
2. 1 proz. Oxalsäurelösung.
3. Aqua bidestillata.
4. Hundertgeteilte 1-ccm-Pipetten.

Zur Lösung des Permanganats ist die Anwendung von bidestilliertem, von allerlei organischen oder anderen Verunreinigungen freiem Wasser ratsam, das Permanganat oxydiert nämlich oxydable Substanzen sehr schnell und schlägt sich reduziert als brauner Niederschlag an der Glaswand nieder. Auch die Oxalsäurelösung soll auf gleiche Weise hergestellt werden, damit keine Verunreinigung die fein eingestellte Reaktion störe.

Die Reaktion wird in peinlich sauberen, kleinen, sterilen Röhren (Wassermann-Röhrchen) angestellt. Zu 0,25 ccm Liquor geben wir zuerst 1 ccm Oxalsäurelösung und nach sanftem Umschütteln sofort 0,05 ccm, d. h. ein Tropfen Kalium permanganat-Lösung. Die Röhrchen werden nochmals sanft umgeschüttelt. Es empfiehlt sich auch, einen sicher negativen Liquor zu untersuchen und ein Kontrollröhrchen einzustellen. In das Kontrollröhrchen wird statt des Liquors die gleiche Menge bidest. Wassers

gegeben. Der negative Liquor und das Kontrollröhrchen zeigen bei der Ablesung keine Veränderung. Die Reaktion muß genau nach 8 Minuten abgelesen werden. In diesem Zeitpunkt sind nämlich die Verschiedenheiten zwischen normalen und pathologischen Liquoren am prägnantesten. Untersucht man auf einmal mehrere Liqueure, so werden freilich alle Reaktionen auf einmal aufgestellt und abgelesen.

Die negativen Liqueure zeigen dem Kontrollröhrchen ähnlich die unveränderte oder etwas verblaßte rot-violette Farbe der Kalium permanganat-Lösung. Den Übergang in den braunroten Farbenton bezeichnen wir mit \pm , rotgelb mit $+$, gelb mit $++$ und das ganz blasse Gelb mit $+++$. Die einzelnen Reaktionsgrade lassen sich infolge der lebhaften Farbumterschiede leicht ermitteln. Die milderen Resultate \pm und $+$ geben sich durch geringere Tonunterschiede zu erkennen, aber nach kurzer Übung bedeutet auch das keine Schwierigkeiten.

Steht genügender Liquor zur Verfügung, so kann man die Reaktion in Fünfer-Serien anstellen. In das erste Röhrchen kommen 0,25, in das zweite 0,20, in das dritte 0,15, in das vierte 0,10, in das fünfte 0,05 ccm Liquor, d. h. 5, 4, 3, 2 und 1 Tropfen; vom zweiten Röhrchen angefangen werden sie dann mit 1 bis 4 Tropfen Aqua bidest. zu gleichen Volumina ergänzt. Das sechste Röhrchen dient zur Kontrolle, daher pipettieren wir 0,25 ccm Aqu. bidest. In der weiteren Folge setzen wir 1 ccm Oxalsäure und 1 Tropfen Kal. permang. jedem Röhrchen zu, auf die oben beschriebene Weise. Das Resultat wird ebenfalls nach 8 Minuten abgelesen und an einem Koordinatensystem dargestellt. Die Reaktionsgrade werden der Ordinate, die abnehmenden Liquorverdünnungen der Abszisse aufgetragen.

Mit der beschriebenen einfachen Methode haben wir bisher 46 Liqueure untersucht bei verschiedenen Psychosen und Nervenleiden (10 Dem. paralytica, 1 Taboparalyse, 2 Tabes dorsalis, 1 Lues cerebrospinalis, 3 Lues latens seropositiva, 3 Epilepsie, 1 Parkinsonismus, 1 Hemiplegie, 1 Epilepsie nach Pneumoencephalie, 3 Neurasthenie, 9 Schizophrenie, 7 manisch-depressives Irresein, 4 andere keine Liquorläsion zeigende Krankheiten). In jedem Falle hatten wir außer der „Viererreaktion“ auch die Goldsol- und bikolorierte Mastixreaktion angestellt. Die Paralyse und Taboparalyse ergaben immer $+++$ positives Resultat; nur eine langbehandelte Paralyse, bei der auch die Pandy-R. $+$ war, gab die Oxydationsreaktion ebenfalls $+$. Tabes und Lues cerebri gaben gleichfalls ein positives Ergebnis. Bei Epilepsie, endogenen Psychosen und funktionellen Nervenkrankheiten erhielten wir stets ein negatives Resultat. In einem Falle von Hemiplegie, wo wir einen xanthochromen Liquor mit Bildung eines Fibrinnetzes, sehr starke Globulinreaktionen und Kolloidkurven vom meningitischen Typ erhalten hatten, war auch die Oxydationsreaktion $+++$ positiv, und zwar stellte sie sich in diesem Grade schon früher ein (6 Min.). Der nach Lufteinblasung erhaltene zellreiche, eine leichte Meningitis-kurve gebende Liquor war ebenfalls hoch positiv. In Ab-

bildung 1 sind die mit der Fünferserie erhaltenen Kurven bei Paralyse sichtbar.

Die Reaktion ging im allgemeinen mit den Resultaten der Globulinreaktionen parallel. Ihre Empfindlichkeit entspricht denen der Phase I und der Weichbrodt-Reaktion, von der Pandy-Reaktion wird sie aber etwas übertroffen.

Über unsere zahlreichen vergleichenden Untersuchungen werden wir künftig berichten.

Das verschiedene Verhalten zwischen pathologischen und normalen Liquoren beruht zweifellos auf den qualitativen und quantitativen Verschiedenheiten des Eiweißgehaltes. Nach unseren Untersuchungen beschleunigen den fraglichen chemischen Prozeß auch normale Liquore in geringerem Grade. Bei negativen Liquoren entstehen aber die + und ++ entsprechenden Reaktionsgrade nur nach ca. 14 bzw. 19 Mi-

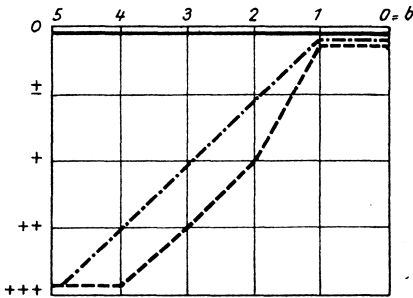


Abb. 1.

nuten. Die Wirkung der Liquoreiweiße ist wahrscheinlich vor allem eine katalytische, und zwar können die verschieden dispersen Eiweißfraktionen, das Euglobulin, Pseudo- und Fibrinoglobulin, ferner die Albuminkolloidteilchen in dieser Hinsicht verschieden wirken. Mit Zunahme des Eiweißgehaltes nimmt auch die Konzentration der Kolloidteilchen zu und damit in Verbindung auch die reaktionsbeschleunigende Wirkung.

Die feinere Dispersität der Eiweißkolloidteilchen oder die Zunahme der Kolloidteilchen in der Volumeinheit führt zu einer Vergrößerung ihrer Wirkungsflächen. Die Kolloidlösungen bewirken die Zunahme der wirkungsfähigen Konzentration einer im Dielektrikum gelösten Substanz und das hängt auch mit der Hydratation der Dispersteilchen zusammen. In diesem Sinne kommt die Wirkung der Liquoreiweiße in dem chemischen Prozeß zwischen Oxalsäure und Permanganat zur Geltung im Rahmen der durch die Reaktion gegebenen Umstände.

Wir hatten auch untersucht, wie das gewöhnliche Eiweiß, andere Kolloidsubstanzen, organische und anorganische

Krystalloide auf den besprochenen chemischen Vorgang einwirken.

Statt der bei der Reaktion verwendeten 0,25 ccm Liquormenge versetzten wir die gleichen Mengen von 0,1% Eiweiß, 0,1% Amylum soluble, 0,1% Traubenzuckerlösung, 0,1% Siliquid (Boehringer & Söhne, 0,25 SiO₂ in hundert Teilen Wasser) mit Oxalsäure und einem Tropfen KMnO₄. Das Eiweiß wirkte ebenfalls beschleunigend, wenn auch in geringerem Maße, als der normale Liquor. Die kolloidale Stärkelösung war etwas wirksamer, die Siliquidlösung wirkte stärker katalytisch als der normale Liquor. Die 0,1proz. Traubenzuckerlösung hatte keine wahrnehmbare Wirkung. Kochsalzlösungen haben sogar in 1,5proz. Konzentration keine beschleunigende Wirkung gehabt.

Die 0,25proz. kolloidale Lösung der Kieselsäure verhält sich also in der Reaktion, wie die Kolloide der Liquoreiweiße. Diese Versuche bekräftigten uns in der Annahme, daß bei dieser Oxydationsreaktion die Liquoreiweiße die Reaktionsänderungen vor allem in katalytischem Sinne ausüben.

Nach Ablauf der Reaktion bleiben die Eiweiße nicht in unverändertem Zustand im Röhrchen zurück. Wenn man nämlich 0,25 ccm Liquor mit 1 ccm dest. Wasser verdünnt, so lassen sich die Eiweiße mittels 4—5 Tropfen 20proz. Sulfosalicylsäure oder 33proz. Trichloressigsäure ausfällen und im Röhrchen zeigt sich eine Opaleszenz. Bei der Oxydationsreaktion lassen sich die Eiweiße nach Ablauf der Reaktion nicht mehr ausfällen. Die Liquoreiweiße sind da entweder als eine neutralisierte stabile Lösung oder infolge einer Hydratation infolge der Einwirkung des Oxalats und Mangans bzw. der Reagenzien in Form von niedrigeren Eiweißprodukten vorhanden. Solche sich in keiner Koagulation kundgebenden Änderungen der Kolloidlösungen sind als kolloidale Zustandsänderungen bekannt. Im allgemeinen spielen in der Reaktion die die Liquoreiweiße betreffenden Adsorptionserscheinungen und Ionadsorptionen im Sinne FREUNDLICH'S eine Rolle. Zur Erklärung der feineren Details dieser Prozesse sind unsere kolloidchemischen Kenntnisse noch ungenügend, da sie mit von der chemischen Konstitution abhängenden Faktoren, wie Oberflächenspannung und assoziierenden molekularen Kräften, in Beziehung stehen. Diese Beziehungen sind aber noch ganz unbekannt.

Noch erwähnen wollen wir, daß wir auch die Wirkung des Liquors auf die Reaktion zwischen Kal. permanganat und Natr. hydroxyd-Lösungen studiert hatten. Auch hierbei zeigten die normalen und krankhaften Liqueure ein verschiedenes Verhalten. In dieser Richtung waren auf Grund ganz neuer Prinzipien sehr wichtige und eigentümliche und auch diagnostisch verwertbare Eigenschaften der verschiedenen Liqueure feststellbar. Nach völliger Ausarbeitung der Methodik werden wir auch darüber berichten.

Zusammenfassung: Die diagnostische Verwertbarkeit der Oxydationsreaktion kann mit derjenigen der Globulin-

reaktionen verglichen werden. Die Positivität +++ kommt besonders bei Dem. paralytica vor, bei Meningitis tritt positives Resultat noch schneller ein.

In der Irrenanstalt zu Nagykallo haben SOMOGYI und KULCSÁR die Reaktion in 65 Fällen angestellt, wie sie uns darüber mündlich berichteten. Ihre Ergebnisse haben unsere Resultate bekräftigt.

Endlich zollen wir Herrn Prof. BODNÁR unseren innigsten Dank, daß er uns in der theoretischen Erklärung der Reaktion mit seinem wertvollen Rat zur Seite gestanden hat.

