

## Zur Chemie der Hydrocephalusflüssigkeit.

Von  
E. Sieburg.

(Aus dem Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie der Universität  
zu Rostock.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. Juli 1913.)

Auf der Kinderabteilung der hiesigen med. Klinik befand sich ein 13 Monate alter Knabe mit Hydrocephalus bei einem Schädelumfang von 81 cm. Durch direkte Hirnpunktion wurden 270 ccm eines wasserklaren, ganz schwach opaleszierenden und gegen Lackmus schwach alkalisch reagierenden Liquors gewonnen mit folgenden Konstanten:

Spez. Gewicht: 1,0054

Gefrierpunkt: — 0,56°

$[\alpha]_D^{20} = + 0,264^\circ$

Trockenrückstand: 0,9936 %; davon

Mineralbestandteile: 0,8404; davon

Chloride als NaCl berechnet: 0,8006;

mithin organische Substanz: 0,1532 %.

In dieser organischen Substanz wurden nachgewiesen: Cholesterin, Zucker, Harnstoff sowie Stoffe enzymatischer Natur.

Die physikalischen Konstanten, der Trockenrückstand, der Aschen- und Chloridgehalt erwiesen sich nach den bisherigen Untersuchungen als etwas schwankend, wenn auch die Differenzen keine allzugroßen sind. (Cavazzani, Concetti, Coriat, Frenkel-Heiden, Panzer, Polálanyi, Toison und Lenoble.)

Auffallend ist, daß in dem vorliegenden Liquor Eiweiß fehlt, obwohl von anderer Seite ein Gehalt an solchem, der freilich in weiten Grenzen schwankt, behauptet wird. (Concetti, Frenkel-Heiden, Panzer, Polányi, Toison und Lenoble.) Die gewöhnlichen Proben: Essbach, die Kochprobe,

sowie Versetzen mit Ferrocyankalium und Essigsäure ließen die Flüssigkeit völlig klar bleiben. Auch die Biuretreaktion war völlig negativ, wie auch Phosphorwolframsäure Nichts ausfällte. Sicherlich fehlen hier also höher stehende Körper, wie Albumine, Globuline, Peptone, sowie die ganze Reihe der tiefer abgebauten, durch Phosphorwolframsäure fällbaren. Doch lieferte längeres Kochen mit Millons Reagens einen schwach, aber deutlich rosa gefärbten Schaum; auch wurde der Liquor nach Kochen und längerem Stehenlassen mit stark natronalkalischem Bleiacetat gelb. So muß doch wohl ein Vorhandensein weit abgebauter Eiweißderivate, die noch die Oxyphenylgruppe und den Cysteinkomplex enthalten, angenommen werden.

Zu den Angaben in der Literatur über den Eiweißgehalt der Hydrocephalusflüssigkeit, der von Null bis Spuren bis über 1% schwankt, ist Folgendes zu bemerken. In einigen Fällen wurden die gesamten organischen Bestandteile einfach als „Eiweißsubstanz“ angenommen, in anderen wurden zwar die rein stickstoffhaltigen nach Kjeldahl bestimmt, aber dann nach Multiplikation mit 6,25 als Eiweiß in Rechnung gestellt, unbeachtet daß so auch andere stickstoffhaltige Produkte, wie z. B. Harnstoff, als Eiweiß fungierten. Weiter war manchmal der Hydrocephalus kombiniert mit schwersten organischen Hirnerkrankungen, wie Paralyse, Lues cerebri und Meningitis; und wieder einige Male wurde der Liquor erst bei der Sektion der an interkurrenten Krankheiten verstorbenen Individuen entnommen. Endlich, was wohl am ehesten in Betracht zu ziehen ist, wo in vivo punktiert wurde, geschah dies meist lumbal, in der stillschweigenden Voraussetzung, daß der Liquor cerebrospinalis als eine einheitliche Flüssigkeit anzusehen sei und an allen Stellen die gleiche Zusammensetzung habe. Nach den neueren Untersuchungen von Cymbal, Fischer, Neu und Hermann, Nölke, Nonne, Quincke, Sicard und Walter ist dies aber fast nie, weder unter pathologischen noch unter normalen Verhältnissen der Fall. So sind denn wohl auch die u. a. durch Beurteilung des Eiweißgehaltes bedingten Anschauungen zu verstehen, die unter Umständen im Liquor cerebri ein Exsudat, gewöhnlich ein Transsudat,

manchmal aber auch eine einfache lymphatische Absonderung der Endothelien der Telae chorioideae erblicken.

Eine Probe des Liquors mit Natronlauge erhitzt ließ Dämpfe entweichen (Ammoniak), die rotes Lackmuspapier bläuten, Curcumapapier bräunten und einen mit Neßlers Reagens angefeuchteten Papierstreifen dunkelorange färbten. Den Ausfall dieser Reaktion möchte ich als durch die Gegenwart von Harnstoff bedingt ansprechen, da ja Eiweißsubstanzen bereits angeschlossen waren.

Zum Nachweis des Cholesterins wurde der Trockenrückstand von 10 ccm Liquor mit Äther aufgenommen, dieser abgedunstet und in Essigsäureanhydrid gelöst. Nach Unterschichten mit konzentrierter Schwefelsäure trat die für Cholesterin bekannte (Liebermann-Burchhard) Violett-Grünfärbung auf.

Das Cholesterin läßt sich aber auch biologisch nachweisen. Wie Ramson wahrscheinlich machte, und welche Lehre von Kobert und seinen Schülern weiter ausgebaut wurde, beruht die Hämolyse, die durch Saponinstoffe in vitro hervorgerufen wird, auf der nahen chemischen Affinität dieser Körperklasse zum Cholesterin. Hiernach reißen die Saponine das Cholesterin aus dem Erythrocytenstroma an sich und bewirken so den Austritt von Hämoglobin in die umgebende Flüssigkeit. Enthält diese, von Natur aus oder künstlich zugesetzt, genügend Cholesterin, so wird erst dies zur Absättigung des Saponins verbraucht, bevor die Blutkörperchen angegriffen werden. Diese bleiben somit intakt und eine Hämolyse tritt nicht ein.

In vorliegendem Falle wurden je 5 ccm Liquor und 5 ccm physiologische Kochsalzlösung als Kontrolle mit zwei Tropfen Katzenblutkörperchen versetzt. Beide Gläser erhielten gleichzeitig gleich viel Tropfen einer sehr verdünnten Lösung von Smilacin (ein Saponin aus der Sarsaparille). Nach 12 Minuten, nachdem beide Gläser 0,06 mg (!) Saponinzusatz erhalten hatten, begann in dem Kontrollglas, das nur Saponin und Blut-Kochsalzgemisch enthielt, Eintritt der Hämolyse, während der Inhalt des Glases mit Liquor-Blut-Saponin unverändert war. Auch noch nach 12 Stunden war dies unverändert, während in der Kontrolle die Hämolyse fast vollständig war.

Der Liquor reduzierte alkalische Kupferlösung und vergor mit Bierhefe. Diese Tatsachen im Verein mit der schwachen Rechtsdrehung lassen Glukose wahrscheinlich erscheinen, ohne daß wegen der geringen Menge durch Osazondarstellung der exakte chemische Beweis erbracht werden konnte. Eine Bestimmung und Berechnung des Zuckers als Glukose nach Allihn ergab:

25 ccm Liquor gaben  $0,0251 \text{ g CuO} = 0,0204 \text{ g Cu}$  entsprechend  $0,042\%$  Glukose.

Mit der Untersuchung des cerebralen Liquors auf Enzyme unter normalen Verhältnissen und bei Hydrocephalus hat man sich nur sehr wenig befaßt. Die weitaus meisten Arbeiten erstrecken sich auf Fälle mit cerebros spinalen Erkrankungen. Aber auch hier gilt das, was schon bei der Prüfung auf Eiweißsubstanzen hervorgehoben wurde: die Bedingungen, unter denen man untersuchte, waren nicht einheitlich.

Von auf Kohlenhydrate einwirkenden Enzymen fand Panzer in der Hydrocephalusflüssigkeit keine Diastase und Lewandowsky solche nicht im normalen Liquor. Dagegen wurde sie im normalen Liquor von Kafka nachgewiesen, und von demselben Autor wie auch von Cavazzani, Lühje und Szabó bei organischen Erkrankungen des Hirns und Rückenmarks wie auch bei anderen Geisteskrankheiten.

Glykolytische Enzyme fanden Cavazzani und Blumenthal, und Mestrezat beobachtete nach dem Tode das Schwinden der Glukose.

Auf Invertasen und Zymasen bei Geisteskrankheiten prüfte Szabó, konnte aber ihre Wirkung polariskopisch nicht nachweisen.

Lipasen, sowie Stoffe, die Lecithin und Monobutyrim spalten, fanden Kafka im normalen Liquor, Citron und Reicher in den Fällen, wo die Wassermannsche Reaktion positiv war, und Szabó bei allen von ihm daraufhin untersuchten Geisteskranken. Garnier und Nizzi konnten sie aber weder unter normalen noch pathologischen Verhältnissen nachweisen.

Eiweißabbauende Enzyme fanden Szésci im normalen Liquor, Douchez ebenso wie Fiessinger und Marie bei

Meningitis, Kafka und Szabó erhielten sie nicht bei Geisteskranken.

Antiproteolytische oder antitryptische Eigenschaften beobachteten Schultz und Chiarolonga beim normalen Liquor, und Müller und Kolaczek bei tuberkulöser Meningitis. Kafka konnte solche auch beim Liquor Geisteskranker nachweisen, nicht aber Szabó.

Labenzym fand derselbe Autor nicht bei seinen Geisteskranken.

Von der großen Gruppe der Oxydasen fand Cavazzani bei Hunden und Kälbern einen auf Guajaktinktur, Pyrogallol und Hydrochinon einwirkenden Stoff, den er Cerebrospinasen nennt, und dem er eine hervorragende Rolle bei den Oxydationsprozessen im Zentralnervensystem zuschreibt. Pighini zeigte, daß sowohl im normalen Liquor, als auch in dem von Geisteskranken, wie auch in den drüsigen Anteilen der Telae chorioideae «Oxygenase» vorhanden ist, die  $\alpha$ -Naphthol und Dimethylphenylendiamin in Indophenol überzuführen imstande ist. Von anderen Oxydasen fand Szabó bei Geisteskranken eine Laccase und Peroxydase, vermißte aber Tyrosinasen und Aldehydasen.

Endlich fand letzterer noch eine Katalase, die Barbieri im Liquor gesunder und geisteskranker Individuen gesucht hatte, aber nicht nachweisen konnte.

Meine Aufgabe konnte es nicht sein, auf den einen Spezialfall diese vielfachen Angaben nachprüfend zu übertragen, sie sollten nur hier und da, wenn möglich, ergänzt werden.

Um die Einwirkung des Liquors auf verschiedene Kohlenhydrate zu studieren, wurden versetzt:

- A. 1. 10 ccm Liquor + 0,2 g lösliche Stärke;
- 2. 10    »    »    + 0,2   » Rohrzucker;
- 3. 10    »    »    + 0,2   » Milchzucker;
- 4. 10    »    »    + 0,2   » Inulin.

- B. von aufgekochtem und 5 Minuten bei 100° gehaltenem Liquor
- 1. 5 ccm + 0,2 g lösliche Stärke;
- 2. 5    » + 0,2   » Rohrzucker;
- 3. 5    » + 0,2   » Milchzucker;
- 4. 5    » + 0,2   » Inulin.

## C. als zweite Kontrolle

1. 5 ccm 0,9% NaCl + 0,2 g lösliche Stärke;
2. 5    > 0,9%     >   + 0,2   > Rohrzucker;
3. 5    > 0,9%     >   + 0,2   > Milchzucker;
4. 5    > 0,9%     >   + 0,2   > Inulin.

Die Gläser erhielten, um Fäulnis zu verhindern, einen Zusatz von je zwei Tropfen Toluol und blieben die Nacht über im Thermostaten. Bei der darauf folgenden Untersuchung zeigten die Kontrollen C gar kein Reduktionsvermögen, die Kontrollen B ein geringes, hervorgerufen durch den in dem Liquor bereits nachgewiesenen Zucker (bei B<sub>3</sub> war es natürlich größer!); bei sämtlichen Proben von A schien es zugenommen zu haben.

Um sicher zu gehen, wurden die Proben A filtriert, von dem Filtrat je 5 ccm eingedampft und mit starkem Alkohol, der ja nur die Hexosen löst, aufgenommen. Diese alkoholischen Auszüge wurden wiederum zur Trockene gebracht und mit wenig Wasser aufgenommen. Genau so wurde mit 5 ccm Liquor verfahren, der keinen Kohlenhydratzusatz erhalten hatte. Es zeigte sich, daß unter diesen Bedingungen der letztgenannte Liquor von einer zehnfach verdünnten Fehlingschen Lösung 5,2 ccm bei völligem Verschwinden der Blaufärbung reduzierte, während die 5 ccm Liquor mit Stärkezusatz 15,1 ccm Fehling verbrauchten, der Liquor mit Rohrzucker 9,8 ccm, der mit Milchzucker 9,4 ccm und der mit Inulinzusatz 6,1 ccm. Hier-nach hatte sich das Reduktionsvermögen des Liquors durch den Kontakt mit Stärke ungefähr verdreifacht, mit Rohr- und Milchzucker verdoppelt und war durch Inulin fast unbeeinflußt geblieben. Somit war die Gegenwart einer Diastase und Invertase erwiesen, eine Inulase fehlte.

Um auf glukosidspaltende Enzyme zu prüfen, wurden gleichzeitig wie oben 5 ccm Liquor und zur Kontrolle gekochter und noch länger erhitzter Liquor und ebenso physiologische Kochsalzlösung mit je 0,2 g Glukosid versetzt. Zur Verwendung kamen Amygdalin, Arbutin und Helicin. In allen drei Fällen ließ sich freies Aglukon nachweisen: Cyan durch Guajak-Kupferpapier, Hydrochinon durch Dunkelfärbung mit Eisenchlorid, und Salicylaldehyd durch die momentan ein-

tretende und wieder verschwindende Violettfärbung mit demselben Reagens, während die Kontrollen nicht verändert wurden.

In gleicher Weise ließ sich Esterspaltung von Salol und Tannigen nachweisen. Auch hier wurden die Kontrollen durch Eisenchlorid nicht beeinflusst, sie wurden nicht violett bzw. schwarz gefärbt.

Um eine Lipasenwirkung darzutun, wurden 5 ccm Liquor mit 2,5 ccm einer 10%igen Lecithinemulsion (Merck) zusammengebracht und ebenfalls 5 ccm des erhitzten Liquors. Dann wurde mit  $n/10$ -HCl genau neutralisiert und nach 24 stündigem Stehen im Thermostaten die sich gebildet habende freie Säure mit  $n/10$ -NaOH neutralisiert. Bei der Kontrolle waren hierzu zwei Tropfen notwendig, während die eigentliche Probe 0,7 ccm  $n/10$ -NaOH bis zur Neutralisation verlangte. Eine Lipasenwirkung war hierdurch deutlich erwiesen.

---

Das bemerkenswerteste Resultat ist, daß in der vorliegenden Hydrocephalusflüssigkeit hochstehende eigentliche Eiweißsubstanzen nicht gefunden wurden, dagegen eine Reihe von Enzymen, unter denen sich Diastase, Invertase, Lipase, sowie Glukoside und Ester spaltende näher als solche identifizieren ließen.

### Literatur.

Blumenthal, *Ergebn. d. Physiol.*, Bd. 1, 1902. — Cavazzani, *Centralbl. f. Physiol.*, Bd. 14, 1900. — Derselbe, *Ergebn. d. Physiol.*, Bd. 1, 1902. — Concetti, *Arch. f. Kinderheilk.*, Bd. 24, S. 161, und *Jahresber. d. Tierchem.*, Bd. 28, S. 401. — Coriat, *Americ. Journ. of Physiol.*, Bd. 10, S. 212, und *Jahresber. d. Tierchem.*, Bd. 34, S. 562. — Cymbal, *Therap. d. Gegenw.*, Nov. 1906. — Citron und Reicher, *Berl. klin. Wochenschr.*, Nr. 30, 1908. — Douchez, *Journ. of experim. Med.*, Nr. 11, 1909. — Fiessinger und Marie, *Compt. rend. de la Soc. de Biolog.*, T. 66, 1909. — Fischer, *Neurolog. Centralbl.*, 1906. — Frenkel und Heiden, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 2, 188. — Garnier, *Compt. rend. de la Soc. de Biolog.*, T. 55, 1903. — Kafka, *Neurolog. Centralbl.*, Nr. 10, 1912. — Ders., *Zeitschr. f. d. ges. Neurolog. u. Psych.*, Referatenteil, Bd. 6, Nr. 4 u. 5. — Ders., *Mitteil. a. d. Hamburger Staatskrankenanstalt*, Bd. 13, 1912. — Lewandowsky, *Zeitschr. f. klin. Med.*,

Bd. 40, 1900. — Lüthje, Beitr. z. Kenntnis d. fermentativen Wirkungen in norm. u. path. Flüssigk., Festschr. f. Rosenthal, Leipzig 1906. — Mestrezat, Journ. de Physiol. et de Path. générale, T. 11, 1909. — Müller und Kolaczek, Münch. med. Wochenschr., 1907, S. 354. — Neu und Hermann, Monatsschr. f. Psych. u. Neurolog., Bd. 24, 1908. — Nizzi, Biochem. Zeitschr., Bd. 42, 1912. — Nölke, Deutsche med. Wochenschrift, 1909. — Nonne, Syphilis und Nervensystem, 2. Aufl., 1909. — Panzer, Wien. klin. Wochenschr., Nr. 31, 1899, und Ergebn. d. Physiologie, Bd. 1, S. 286. — Polányi, Biochem. Zeitschr., Bd. 34, 1911. — Pighini, Biochem. Zeitschrift, Bd. 42, 1912. — Quincke, Deutsche med. Wochenschr., Nr. 46, 1905. — Sicard, Le liquid cephalo-rachidien. Thèse de Paris, 1912. — Szabó, Zeitschr. f. d. ges. Neurolog. u. Psych., Bd. 17, 1913. — Szécsi, Wien. klin. Wochenschr., Nr. 33, 1909. — Schultz und Chiarolonga, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 34, 1908. — Toison und Lenoble, Compt. rend. de la Soc. Biolog., T. 34, S. 373. — Walter, Monatsschr. f. Psych. u. Neurol., Bd. 28, 1910.

---