

Über Blutserumdiastasen und Antidiastasen.

Von
M. Ascoli und A. Bonfanti.

(Aus dem Institute für spezielle Pathologie der Universität Pavia: Prof. L. Devoto.)
(Der Redaktion zugegangen am 2. September 1904.)

I. Über die Vielheit der Blutserumdiastasen.

Seit Magendie und Claude-Bernard ist es bekannt, daß das Blutserum Stärke in Zucker umzuwandeln imstande ist, von den Arbeiten der späteren Autoren haben dann besonders die Untersuchungen von Röhmann und Bial¹⁾ dazu beigetragen, in einwandsfreier Weise den Beweis zu liefern, daß Blut- und Lymphserum ein saccharifizierendes Ferment enthalten. Weiterhin wies Bial nach, daß das diastatische Ferment des Blutserums sich von demjenigen des Speichels und Pankreas unterscheidet: eine eingehende Analyse dieser Vorgänge führte Bial und C. Hamburger²⁾ in plausibler Weise zur Annahme, daß das Blutserum zwei verschiedene Fermente enthält, eine Diastase, welche Stärke in Dextrin und Maltose überführt, und eine Glukase, welche diese beiden Produkte in Traubenzucker spaltet. Beide Fermente sind nach Hamburger auch in Speichel und Pankreas enthalten, aber in anderen Mengenverhältnissen als im Blutserum, auf welchen Umstand die Verschiedenheiten der diastatischen Wirkung besagter Organe zurückzuführen sind.

Wir bezwecken, in folgendem auf biologischem Wege den Beweis zu erbringen, daß das Blutserum, in vollster Übereinstimmung mit der von Ehrlich vertretenen plurimistischen Auffassung der Antikörper desselben, eine Vielheit untereinander verschiedener diastatischer Fermente enthält.

¹⁾ M. Bial, Archiv für Physiologie, Bd. 52, 53, 54.

²⁾ C. Hamburger, Archiv für Physiologie, Bd. 60.

Technik und Versuche.

Zu den Versuchen wurden Mercksche Präparate von Kartoffel- und Reisstärke in 1%iger frisch bereiteter Suspension mit frischem Blutserum und 1% Toluol versetzt, tüchtig durchgeschüttelt und darauf 24 Stunden im Brutfen bei 37° gehalten, wobei dieselben wiederholt durchgeschüttelt wurden. Nach Herausnahme aus dem Brutschranke wurden die Kölbchen auf Sterilität durch Impfungen von aus der Mitte in sterile Pipetten aufgesaugten Tropfen auf Agar und Bouillon kontrolliert — wobei die Kulturen regelmäßig steril blieben —, mit 1% Kochsalz versetzt, im Soxhletschen Apparate gekocht, nach Zusatz einiger Tropfen verdünnter Essigsäure wieder gekocht und darauf möglichst rasch filtriert. Der Reduktionswert wurde mit Violettescher Kupfersulfatferrocyankaliumlösung bestimmt, von welcher 20 ccm zur Titration verwendet wurden. Die Fehlergrenzen der Methode betragen nach Kontrollversuchen bis 0,01—0,015%; der geringste noch mit Sicherheit zu bestimmende Zuckergehalt war mit unseren Lösungen 0,05%. Einfaches 2stündiges Kochen von Stärkekleister mit verdünnter Essigsäure bedingt, wie bekannt und wie wir uns vergewisserten, keine Saccharifikation desselben. Endlich möchten wir noch hervorheben, daß wir auf eine Reihe von Menschen-, Rinder- und Kaninchensera gestoßen sind, die unter den angegebenen Bedingungen nicht oder nur Spuren von Zucker bildeten.

Wir lassen zunächst die Versuche folgen, in denen wir dasselbe Blutserum einerseits auf Kartoffelstärke, andererseits auf Reisstärke, drittens auf Reisstärke und Kartoffelstärke einwirken ließen.

Aus den in Tabelle Ia und Ib niedergelegten Beobachtungen folgt, daß die saccharifizierende Wirkung des Blutserums auf verschiedene Stärkearten eine verschieden starke ist: bei Einwirkung auf Suspensionen, die mehrere Stärkearten enthalten, ist die Saccharifikation für gewöhnlich größer als bei Einwirkung auf ungefähr gleich konzentrierte Suspensionen, die nur eine Stärkeart enthalten.

Tabelle Ia.

1 ccm Blutserum von	Prozentsatz des gebildeten Zuckers bei Einwirkung auf		
	50 ccm 2%ige Kartoffel- stärke- suspension	50 ccm 2%ige Reis- stärke- suspension	50 ccm 1%ige Reis- und 1%ige Kartoffelstärke- suspension
Nr. 16: Diabetes mellitus . .	0,228	0,269	—
Hemiplegiker: Rekonvaleszent	0,161	0,231	—
Nr. 15: Diabetes mellitus . .	0,127	0,122	—
» 18: Kroupöse Pneumonie	—	0,092	0,120
» 9: Pellagrarekonvalesz.	undosierbar	undosierbar	0,093
» 1:	»	0,078	0,201
» 10:	0,095	0,076	0,110
» 3:	0,117	undosierbar	0,082
Rind	0,102	0,065	0,138

Tabelle Ib.

2 ccm Blutserum von	Prozentsatz des gebildeten Zuckers bei Einwirkung auf		
	100 ccm 1%ige Kartoffelstärke- suspension	100 ccm 1%ige Reisstärke- suspension	100 ccm 0,5%ige Reis- und 0,5%ige Kartoffelstärke- suspension
Pellagrarekonvaleszenten, Nr. 8	0,092	0,078	—
Rind	0,066	0,058	0,138

Es läge am nächsten, diese Befunde mit der verschiedenen Löslichkeit der Stärkearten in Zusammenhang zu bringen. Bei näherer Betrachtung der Protokolle ergibt sich aber, daß einmal bei Einwirkung von Blutserum auf Kartoffelstärke, das andere Mal wieder auf Reisstärke die Zuckerbildung größer ist. Mithin wird die erwähnte Erklärung hinfällig und die beobachteten Tatsachen zwingen uns zur Annahme, daß das Blutserum eine Vielheit von diastatischen Fermenten enthält, die spezifisch oder partiell spezifisch

auf verschiedene Stärkearten einwirken. Es erschien uns lohnend, obige Befunde durch Variation der Versuchsanordnung zu erweitern, und haben wir zu diesem Zwecke untersucht, wie sich die Tatsachen bei Anwendung einer Methode, die wir, anlehnend an die elektive Absorption, als elektive Fermenterschöpfung bezeichnen möchten, verhalten. Wir gingen hierbei so vor, daß wir nach der angegebenen Technik das Blutserum zunächst auf eine Stärkeart in 0,5%iger Suspension einwirken ließen, darauf am folgenden Tage die Flüssigkeit in 3 gleiche Teile teilten: im 1. wurde der gebildete Zucker bestimmt; der 2. Teil weiter mit 0,5% derselben vorher angewendeten Stärkeart, der 3. mit 0,5% der anderen Stärkeart versetzt.

Tabelle II.

Stammlösung	Prozentsatz des gebildeten Zuckers		
	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden bei nachträg- lichem Zusatze nach 24 Stunden von 1%iger Kartoffelstärke	nach 48 Stunden bei nachträg- lichem Zusatze nach 24 Stunden von 1%iger Reisstärke
150 ccm 1%ige Reisstärke + 3 ccm menschl. Blut- serums Nr. 16 + 1,5 ccm Toluol	0,137	0,285	0,154
150 ccm 1%ige Kartoffelstärke + 3 ccm menschl. Blut- serums Nr. 16 + 1,5 ccm Toluol	0,097	0,123	0,264
150 ccm 1%ige Kartoffelstärke + 1 ccm Rinderserum + 1,5 ccm Toluol	0,078	0,103	0,126

Vorausgehender Tabelle II ist zu entnehmen, daß bei nachträglichem Zusatze einer verschiedenen Stärkeart die Saccharifikation nach weiteren 24 Stunden bedeutend größer ist als bei Zusatz derselben Stärke. Zwar schreitet die Zuckerbildung auch bei letzterem langsam weiter, da die Fermentwirkung nach 24 Stunden noch nicht den Gleichgewichtszustand erreicht hat; die greifbaren Unter-

schiede im Endresultate stehen jedoch mit der Vielheit der diastatischen Fermente im bestem Einklange.

Die vorliegenden Befunde liefern auch zur vielumstrittenen Frage der Einheitlichkeit der Diastasewirkung im allgemeinen einen Beitrag. Letzterer gegenüber gewinnt die Anschauung, daß die Saccharifizierung auf der sukzessiven Einwirkung verschiedener Fermente (Dextrinase, Maltase, Glukase) beruht, immer mehr Anhänger. Unsere Untersuchungen zeigen, daß die Verhältnisse noch komplizierter liegen, insofern als schon im Blutserum eine Vielheit nicht nur sukzessive, sondern auch gleichzeitig spezifisch auf verschiedene Stärkearten einwirkender diastatischer Fermente vorhanden ist. Ähnliche Verhältnisse sind zuerst von Ehrlich und Morgenroth bei den Hämolysinen,¹⁾ dann von uns²⁾ und hierauf von v. Dungern³⁾ bei den Präzipitinen nachgewiesen worden; unsere Angaben sind in jüngster Zeit von Michaelis⁴⁾ und Bertarelli⁵⁾ nachgeprüft und vollinhaltlich bestätigt worden.

II. Über Antiamylase.

Wir kennen zur Zeit eine Reihe normal vorhandener oder immunisatorisch erzeugter Antifermente (Antilab, Antitrypsin, Antipepsin, Antiurease etc.): hingegen ist bis jetzt die Erzeugung von Antiamylase noch nicht gelungen.

Da das Blutserum normalerweise amylolytisch wirkt, gingen wir zunächst daran, zu untersuchen, ob in demselben vielleicht gleichzeitig antagonistisch wirkende Substanzen vorhanden, durch das Überwiegen der diastatischen Fermente aber verdeckt seien; wissen wir doch aus den schönen Untersuchungen Delezennes,⁶⁾ daß das stark antitryptisch wirkende Blutserum gleichzeitig ein tryptisches Ferment enthält, welches durch Behandlung des Serums mit Chloroform enthüllt werden kann. In ähnlichem Sinne ausgeführte Versuche ergaben bezüglich Antiamylase ein

¹⁾ Berliner klinische Wochenschrift 1899—1902.

²⁾ Münchener med. Wochenschrift 1902.

³⁾ Die Antikörper, Fischer-Jena.

⁴⁾ Deutsche med. Wochenschrift 1904.

⁵⁾ Rivista d'Igiene e Sanità pubblica 1904.

⁶⁾ Delezenne, Comptes rendus de la Société de Biologie 1903.

negatives Resultat: ebenfalls negativ fielen die Versuche mit Zusatz auf verschiedene Temperaturen erhitzter Sera aus; dieselben besitzen, wie schon bekannt,¹⁾ nur beschleunigende Wirkung auf die Blut- und Pankreasdiastasen.²⁾

Wir versuchten nun, die Bildung von Antidiastasen auf immunisatorischem Wege hervorzurufen: in Anbetracht der erwähnten Vielheit der diastatischen Fermente schien uns der Versuch bei geeigneter Anordnung nicht aussichtslos zu sein.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen, denen 10—15 ccm 5%ige, 24 Stunden im Brutschrank mit Chloroform digerierte, darauf durch Chamberlandsche Filter geschickte Pankreatinlösungen (ein Mercksches Präparat) wiederholt intraperitoneal eingespritzt wurden. Es war angezeigt, die amylolytische Wirkung der zu prüfenden Sera durch Erhitzen (30 Minuten auf 65°, wobei dieselben zur Verhinderung von Gerinnung mit demselben Volumen Aq. dest. verdünnt wurden) auszuschalten, um das Hervortreten von Antidiastase zu ermöglichen: inaktivierte Normalsera besitzen, wie erwähnt, beschleunigende Wirkung auf die Pankreasdiastasen. Die Immunsera wurden auf antidiastatische Wirkung gegenüber auf dieselbe Weise frisch bereiteten Pankreatinlösungen, die in den Vergleichsversuchen natürlich dieselben waren, und zum Teil auch gegenüber Blutseris verschiedener Tierarten geprüft.

Kaninchen Nr. 1 (K¹).

Blutserum vor der Behandlung (19. IV. 1904):

100 ccm 1%ige Reisstärke + 2 ccm K¹-Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,107%.

90 ccm 1%ige Reisstärke + 10 ccm 5%ige Pankreatinlösung + Toluol.

Geb. Zucker: 0,100%.

90 ccm 1%ige Reisstärke + 10 ccm 5%ige Pankreatinlösung + 1 ccm K¹-Serum inaktiviert + Toluol.

Geb. Zucker: 0,528%.

K¹ erhält jeden 2. Tag 10 ccm Pankreatinlösung intraperitoneal.

¹⁾ Pozerski, Comptes rendus de la Société de Biologie 1903.

²⁾ Nach unserer Erfahrung ist die Aktivierbarkeit der diastatischen Wirkung verschiedener Pankreatinpräparate durch ein und dasselbe inaktivierte Normalserum sehr verschieden; mitunter fehlt sie vollständig. Das von uns verwendete Präparat war, wie den Protokollen zu entnehmen ist, stark aktivierbar.

Serum geprüft nach dreimaliger Injektion (27. IV):

- 100 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm K¹-Serum + Toluol.
Geb. Zucker: 0,061^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + Toluol.
Geb. Zucker: 0,148^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + 1 ccm
K¹-Serum inaktiviert + Toluol. Geb. Zucker: 0,090^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm Rinderserum + Toluol.
Geb. Zucker: 0,084^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm Rinderserum + 1 ccm K¹-Serum
inaktiviert + Toluol. Geb. Zucker: 0,052^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm Menschenserum + Toluol.
Geb. Zucker: 0,50^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm Menschenserum + 1 ccm K¹-Serum
inaktiviert. Geb. Zucker: 0,069^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 1 ccm K¹-Serum (frisch) + Toluol.
Geb. Zucker: 0,080^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 1 ccm K¹-Serum (frisch) + 1 ccm K¹-Serum
inaktiviert + Toluol. Geb. Zucker: 0,080^o/_o.

Kaninchen Nr. 2 (K²).

Blutserum vor der Behandlung (1. V. 1904):

- 100 ccm 1^o/_oige Kartoffelstärke + 1,5 ccm K²-Serum + Toluol.
Geb. Zucker: 0,077^o/_o.

K² erhält viermal jeden 2. Tag 10 ccm Pankreatinlösung subkutan.

K²-Serum nach der Behandlung (11. V. 1904):

- 100 ccm 1^o/_oige Kartoffelstärke + 1,5 ccm K²-Serum + Toluol.
Geb. Zucker: 0,051^o/_o.

K²-Serum nach 5 weiteren Einspritzungen (21. V. 1904):

- a) 90 ccm 1^o/_oige Kartoffelstärke + 2 ccm Schweineserum + Toluol.
Geb. Zucker: 0,092^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Kartoffelstärke + 2 ccm Schweineserum + 1 ccm
K²-Serum inaktiviert + Toluol. Geb. Zucker: 0,097^o/_o.
- b) 90 ccm 1^o/_oige Kartoffelstärke + 2 ccm Rinderserum + Toluol.
Geb. Zucker: 0,074^o/_o.
- 90 ccm 1^o/_oige Kartoffelstärke + 2 ccm Rinderserum + 1 ccm K²-Serum
inaktiviert + Toluol. Geb. Zucker: 0,077^o/_o.
- c) 80 ccm 1^o/_oige Kartoffelstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung
+ Toluol. Geb. Zucker: 0,205^o/_o.
- 80 ccm 1^o/_oige Kartoffelstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung
+ 1 ccm K²-Serum inaktiviert + Toluol. Geb. Zucker: 0,205^o/_o.

Kaninchen Nr. 3 (K³).

Blutserum vor der Behandlung (4. VI. 1904):

- 90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm Serum K³ + Toluol.
Geb. Zucker: 0,092^o/_o.

Nach 3 Einspritzungen (5., 6., 7. VI.):

90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,088^o/_o.

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + Toluol.

Geb. Zucker: 0,168^o/_o.

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + 1 ccm
inaktiviertes K³-Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,132^o/_o.

Nach 6 weiteren Einspritzungen (24. VI. 04):

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + Toluol.

Geb. Zucker: 0,142^o/_o.

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + 1 ccm
inaktiviertes K³-Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,246^o/_o.

Kaninchen Nr. 4 (K⁴).

Blutserum vor der Behandlung (5. VI. 1904):

90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm K⁴-Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,092^o/_o.

Nach 3 Einspritzungen (9. VI. 1904):

90 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 2 ccm K⁴-Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,077^o/_o.

11. VI. 1904:

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + Toluol.

Geb. Zucker: 0,168^o/_o.

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + 1 ccm
inaktiviertes K⁴-Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,111^o/_o.

Nach weiteren 6 Einspritzungen (24. VI. 1904):

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + Toluol.

Geb. Zucker: 0,142^o/_o.

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + 1 ccm
inaktiviertes K⁴-Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,231^o/_o.

Kaninchen Nr. 5 (K⁵).

Blutserum nach 4 Einspritzungen (14. VI. 1904):

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + Toluol.

Geb. Zucker: 0,205^o/_o.

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + 1 ccm
inaktiviertes K⁵-Serum + Toluol.

Geb. Zucker: 0,205^o/_o.

Kaninchen Nr. 6 (K⁶).

Blutserum nach 4 Einspritzungen:

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + Toluol.

Geb. Zucker: 0,088^o/_o.

80 ccm 1^o/_oige Reisstärke + 10 ccm 5^o/_oige Pankreatinlösung + 1 ccm
inaktiviertes K⁶-Serum.

Geb. Zucker: 0,188^o/_o.

K⁵ und K⁶ wurden noch je viermal injiziert: die Prüfung ihres Serums ergab wieder das identische Resultat, d. h. keine Wirkung mit Blutserum K⁵, begünstigende Wirkung bei K⁶.

Aus den im 2. Abschnitte unseres Aufsatzes mitgeteilten Untersuchungen ergeben sich folgende Schlußfolgerungen:

1. Es ist möglich, durch immunisatorische Behandlung von Kaninchen mit Pankreatin im inaktivierten Serum eine gegen die Pankreasdiastase wirksame Antidiastase nachzuweisen.

2. Die Bildung von Antidiastase ist unter diesen Umständen nicht konstant; mitunter verschwindet nur die normalen inaktivierten Blutseris zukommende beschleunigende Wirkung auf das diastatische Ferment des Pankreas: in anderen Fällen verhalten sich trotz der Behandlung die Blutsera der Versuchstiere wie normale Kaninchensera.

3. Bei längerer Immunisierung der Versuchstiere kann die gebildete Antidiastase wieder verschwinden.

4. Die Antidiastase entfaltet in verschiedenem Maße ihre Wirkung auch auf die Blutdiastasen anderer Tierarten: eine hemmende Wirkung auf das diastatische Vermögen des eigenen frischen Serums konnten wir bisher nicht konstatieren; es stehen diese Tatsachen mit der im 1. Abschnitte angenommenen Vielheit und Verschiedenheit der Blutserumdiastasen in bestem Einklange und bestätigen dieselben.

5. Bei einem Teile der behandelten Kaninchen nahm die amylytische Wirkung des frischen Blutserums ab; diese Abnahme steht scheinbar mit der Bildung von Antiamylase nicht im Zusammenhang: ob dieselbe von der Immunisierung der Tiere direkt abhängt, möchten wir unentschieden lassen.
