

Serologische Studien mit Hilfe der optischen Methode.

XIII. Mitteilung.¹⁾

Von

Emil Abderhalden und Ludwig Pincussohn.

Mit acht Kurvenzeichnungen im Text.

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

Der Redaktion zugegangen am 17. Januar 1911.)

Durch eine Reihe von Arbeiten ist im hiesigen Institute der exakte Nachweis erbracht worden, daß nach parenteraler Zufuhr von Eiweißstoffen und Peptonen im Plasma des Blutes Stoffe auftreten, die eine Veränderung von zugesetzten Proteinen und Peptonen hervorrufen, und zwar konnte speziell in Analogie mit Versuchen nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker es sehr wahrscheinlich gemacht werden, daß die beobachteten Veränderungen auf einen fermentativen Abbau zurückzuführen sind. Eine Stütze erhielt diese Ansicht noch durch Dialysiersversuche.²⁾ Wir hatten sofort nach der Feststellung dieser Beobachtungen das Studium der Anaphylaxie mit Hilfe der optischen Methode in Angriff genommen. Unsere Fragestellung war die folgende: Läßt sich nach der parenteralen Zufuhr von Eiweiß während der ganzen Periode bis zur Auslösung des Shocks nach der Reinjektion die spaltende Wirkung des Plasmas bzw. Serums feststellen und zeigen sich während dieser ganzen Zeit qualitative oder quantitative Unterschiede?

Unsere ersten bereits mitgeteilten Beobachtungen (l. c.)

¹⁾ Mitt. XII: Serolog. Untersuch. mit Hilfe der optischen Methode während der Schwangerschaft und speziell bei Eklampsie. Praktische Ergebnisse der Geburtshilfe und Gynäkologie. Bd. II, S. 367, 1910.

²⁾ Abderhalden und Pincussohn, Serologische Studien mit Hilfe der optischen Methode. IV. Mitt. Diese Zeitschrift, Bd. LXIV, S. 100 (1910).

ergaben keine quantitativen Unterschiede, d. h. das Plasma resp. Serum des Versuchstieres (Hund) spaltete nach Auslösung des Shocks nicht stärker als vorher. Wir haben in der Folge an einem sehr großen Tiermaterial (Hund, Meerschweinchen) das ganze Problem systematisch weiter verfolgt. Wir gingen so vor, daß wir einer größeren Anzahl von Meerschweinchen am gleichen Tage 1 ccm einer 1^o/oigen Lösung von Pferdeserum subcutan oder in andern Fällen intraperitoneal einspritzten. Nun untersuchten wir das Spaltvermögen des Plasmas bzw. Serums der behandelten Tiere nach 2, 4, 6, 8 usw. Tagen. Wir ließen das Serum auf Seidenpepton, in anderen Fällen auf Pferdeserum einwirken. In den ersten Tagen ließ sich eine Veränderung nicht feststellen. Erst gegen den sechsten Tag ergab sich deutliche Spaltung. Sie blieb in gleichem Umfange längere Zeit bestehen (über 3 Wochen). Unser Hauptinteresse richtete sich auf das Verhalten des Plasmas nach Auslösung des anaphylaktischen Shocks. Wir gingen so vor, daß wir die spaltende Wirkung des Plasmas eines Tieres feststellten, das keine Reinjektion erhalten hatte. Gleichzeitig untersuchten wir die Wirkung des Serums eines Tieres der gleichen Versuchsreihe (erste Injektion gleichzeitig erfolgt), bei dem der anaphylaktische Shock ausgelöst war. Die Reinjektion von Eiweiß (Pferdeserum) erfolgte verschieden lange Zeit nach der sensibilisierenden Injektion (2—5 Wochen).

Wir haben eine sehr große Zahl von Versuchen in dieser Weise durchgeführt. Die Resultate fielen immer in derselben Richtung aus. Eine Erhöhung oder sonstige Veränderung der spaltenden Wirkung des Plasmas bzw. Serums während des Shocks ließ sich nicht feststellen. Auch ließ sich in der Periode, in der ein Shock noch nicht auslösbar war, kein anderes Verhalten des Plasmas resp. Serums nachweisen gegenüber der Periode, in der eine Reinjektion positiven Erfolg hatte.

Hierzu ist zu bemerken, daß wir den Abbau von Seidenpepton und Pferdeserum zunächst nur quantitativ verfolgt haben, d. h. wir stellten die Veränderung des Drehungsvermögens in bestimmten Zeiten fest. Gleichzeitig konnten wir allerdings

auch Vergleiche anstellen über die Art des Abbaus. Unterschiede konnten wir auch nach dieser Richtung nicht feststellen.

Wir halten jedoch diese Frage nicht für abgeschlossen, weil die von uns verwandten Substrate nach ihrer ganzen Zusammensetzung und Struktur nicht näher bekannt waren, und uns deshalb auch ein exakter Einblick in die Art des Abbaus im einzelnen fehlt.

Eine weitere Fragestellung, die wir uns vorgelegt haben, war die folgende: Zeigt das Plasma bzw. Serum von sensibilisierten Tieren und von solchen, bei denen der Shock ausgelöst ist, an und für sich Veränderungen des Drehungsvermögens, d. h. auch ohne Zusatz von Eiweißstoffen oder Peptonen? Auch in diesem Punkte ließ sich kein Unterschied nach Auslösung des Shocks feststellen. Die Anfangsdrehung blieb konstant. Die Möglichkeit, daß sofort nach der Reinjektion des Eiweißes Veränderungen im Plasma selbst sich einstellen, ist damit nicht ausgeschlossen. Sie könnten sich so rasch vollziehen, daß sie bei unseren Versuchen nicht mehr zu beobachten sind.

Wir betrachten unsere Beobachtungen, die wir mit Hilfe der optischen Methode gemacht haben, nur als einen Beitrag zu dem komplizierten Problem des Zustandekommens des anaphylaktischen Shocks, den wir den Forschern auf diesem speziellen Gebiete zur Verfügung stellen. Auf eine Diskussion des ganzen Problems möchten wir nicht eingehen,¹⁾ weil wir

¹⁾ Vgl. zu diesem Probleme: Biedl und Kraus, Experimentelle Studien über die Anaphylaxie. Wiener klinische Wochenschr., Nov. 1909. — Pfeiffer und Mita, Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Eiweiß-Antiweißreaktion. Zeitschrift für Immunitätsforschung, Bd. VI, S. 18. 1910. — Schittenhelm und Weichardt, Über die Rolle der Überempfindlichkeit bei der Infektion und Immunität. Münch. med. Wochenschrift, 1910, S. 1769. — Ferner die zahlreichen Arbeiten von Friedberger und seiner Schule in der Zeitschrift für Immunitätsforschung. Endlich seien noch hervorgehoben die Verdienste von W. Weichardt, der wohl zum erstenmal auf Beziehungen zwischen der Anaphylaxie und der parenteralen Verdauung hingewiesen hat. Vgl. hierzu die Übersicht von W. Weichardt in seinem Jahresbericht über die Ergebnisse der Immunitätsforschung. Bd. V. S. 7. 1910.

nur das in den angegebenen Fragestellungen gekennzeichnete Problem verfolgt haben. Die einzige Schlußfolgerung, die wir ziehen möchten, ist die, daß die spaltende Eigenschaft des Plasmas nach erfolgter parenteraler Zufuhr von Eiweiß an und für sich keine direkte Beziehung zur Auslösung des anaphylaktischen Shocks haben kann. Wir begründen diese Folgerung auf die Beobachtung, daß 1. die spaltende Wirkung des Plasmas auch dann schon vorhanden ist, wenn es nicht gelingt, durch Reinjektion einen Shock auszulösen, und 2. stützen wir uns auf die Tatsache, daß zurzeit mit Hilfe der optischen Methode ein Unterschied im Spaltvermögen des Plasmas während des Shocks nicht nachgewiesen werden konnte. Wir wollen damit Beziehungen zwischen der spaltenden Eigenschaft des Plasmas und dem anaphylaktischen Shock durchaus nicht bestreiten, sondern nur hervorheben, daß sie jedenfalls komplizierter Natur sein müssen.

Vielleicht bringen von dem einen von uns (Abderhalden) bereits begonnene Versuche mit verschiedenen hochmolekularen Polypeptiden und mit ziemlich gut definierten Peptonen Klärung. Es soll durch diese Versuche festgestellt werden, ob das Auftreten von spaltenden Eigenschaften im Plasma stets verknüpft ist mit der Möglichkeit der Auslösung eines Shocks oder aber, ob auch ein Shock sich zeigt, ohne daß eine parenterale Verdauung nachweisbar ist.

Zum Schluß möchten wir, was die ganze Methode anbetrifft, nochmals hervorheben, daß Versuche zur Verfolgung des optischen Verhaltens von Plasma bzw. Serum gegenüber bestimmten Substraten nur mit einem sehr guten Polarisationsapparat möglich sind. Ferner muß die Lösung vollständig klar sein. Treten während der Beobachtung Trübungen auf, dann sind die Versuche im allgemeinen unbrauchbar geworden. Endlich müssen stets Kontrollversuche neben dem Hauptversuch in genügender Zahl laufen. Schließlich haben wir uns niemals bei allen Fragestellungen auf die Ergebnisse einzelner Versuche verlassen, sondern sie stets mehrfach wiederholt und erst dann, wenn Übereinstimmung in allen Teilen vorhanden ist, betrachten wir den Versuch als abgeschlossen. Wir fügen diese Bemerkungen

hier nochmals an, weil jüngst Gruber¹⁾ mit Recht auf die Schwierigkeiten in der Durchführung der optischen Methode hingewiesen hat. Wir glauben aber, daß die von uns aufgestellten Bedingungen, speziell die große Zahl der Kontrollversuche und die umfangreichen Einzelversuche vor jedem Irrtum bewahren müssen.

Im folgenden seien als Beleg einzelne Versuche angeführt.

Versuchsreihe 1.

Am 20. Juli 1910 wurde 12 Meerschweinchen je 1 ccm einer 2%igen Lösung von Pferdeserum subcutan injiziert. Die Tiere wurden zu verschiedenen Terminen entblutet und ihr Serum mittels der optischen Methode auf seine spaltende Fähigkeit gegenüber Pferdeserum und Seidenpeptonlösung geprüft. Von diesen Tieren wurde Meerschweinchen II nach 8 Tagen, also am 28. Juli, Meerschweinchen IV nach 14 Tagen, am 3. August, Meerschweinchen VI nach 22 Tagen, am 11. August, entblutet. Von dem Zeitpunkte, an dem Auftreten von anaphylaktischen Erscheinungen nach einer zweiten Injektion von Pferdeserum zu erwarten war (vom 15. Tage ab), wurden stets einem zweiten, auf gleiche Weise behandelten Kontrolltier 5 ccm normales Pferdeserum intraperitoneal injiziert. Ein anaphylaktischer Shock mit den charakteristischen Erscheinungen wurde nur beim Kontrolltier zu Meerschweinchen VI, also 22 Tage nach der sensibilisierenden Injektion beobachtet. Tabelle I und II zeigen die Einwirkung der Sera von Meerschweinchen II, IV, VI auf Seidenpepton und Pferdeserum. Ein wesentlicher Unterschied im Abbau der betreffenden Substrate war nicht zu beobachten. Zur Kontrolle wurde stets das Verhalten von Serum normaler Meerschweinchen (0) gegenüber Seidenpepton und Pferdeserum geprüft. Es ließ sich in keinem Falle eine Änderung der Anfangsdrehung feststellen.

Tabelle I.

0) 1 ccm Meerschweinchenserum (normal) 0,	II) 1 ccm Meerschweinchenserum II,
1 > Seidenpeptonlösung (5%),	1 > Seidenpeptonlösung (5%),
5 > physiol. Kochsalzlösung.	5 > physiol. Kochsalzlösung.

¹⁾ G. B. Gruber, Peptolytische Fermente und Immunstoffe im Blut. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. VII, S. 762, 1910.

IV) 1 ccm Meerschweinchenserum IV,
 1 » Seidenpeptonlösung (5%),
 5 » physiol. Kochsalzlösung.
 VI) 1 ccm Meerschweinchenserum VI,
 1 » Seidenpeptonlösung,
 5 » physiol. Kochsalzlösung.

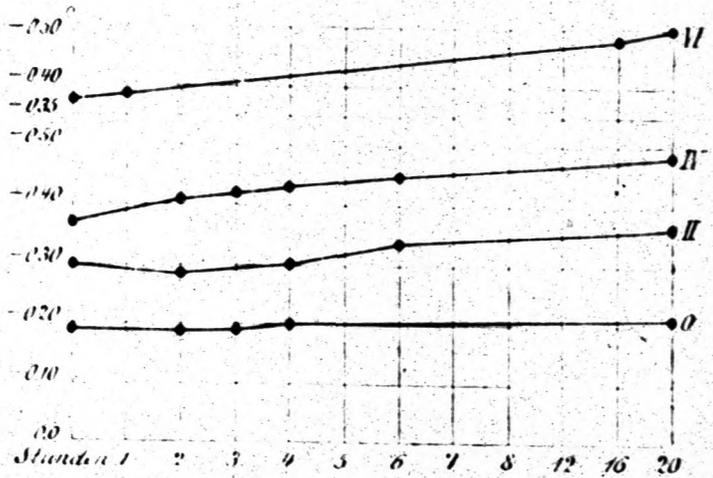
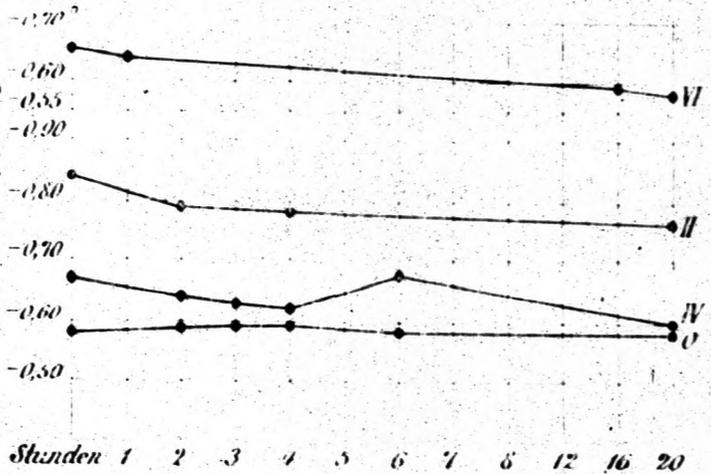


Tabelle II.

I) 1 ccm Meerschweinchenserum 0, II) 1 ccm Meerschweinchenserum II,
 0,5 » Pferdeserum, 0,5 » Pferdeserum,
 5,5 » physiol. Kochsalzlösung. 5,5 » physiol. Kochsalzlösung.

IV) 1 ccm Meerschweinchenserum IV,
 0,5 » Pferdeserum,
 5,5 » physiol. Kochsalzlösung.
 VI) 1 ccm Meerschweinchenserum VI,
 0,5 » Pferdeserum,
 5,5 » physiol. Kochsalzlösung.

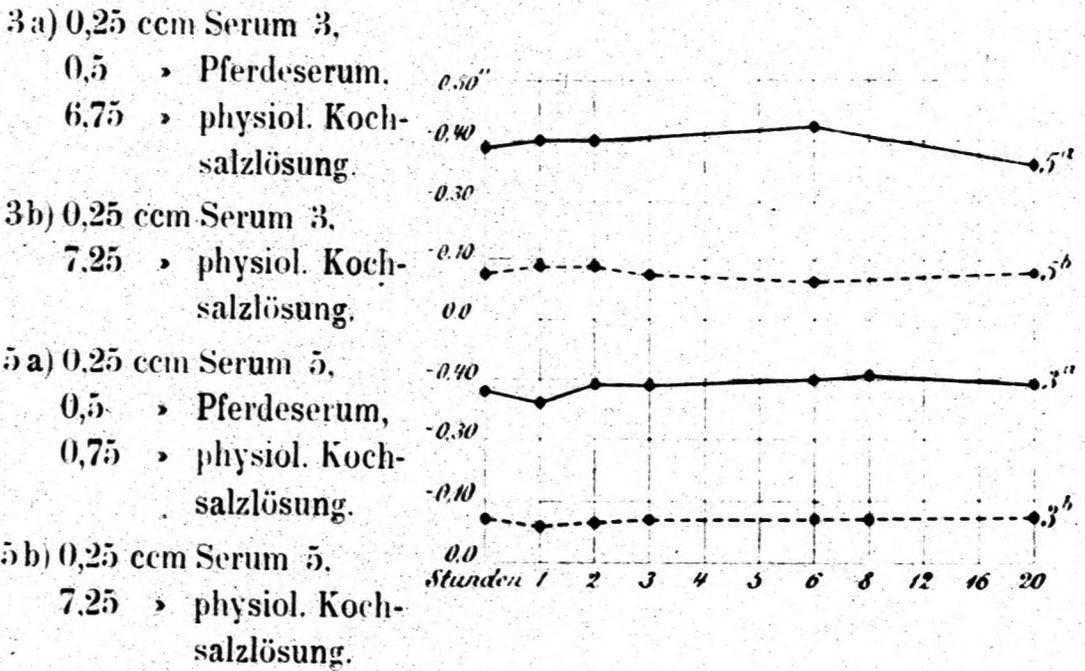


Versuchsreihe 2.

Am 5. Oktober 1910 wurde 11 Meerschweinchen je 1 ccm Pferdeserum 1 : 100 intraperitoneal injiziert. Am 24. Oktober entbluteten wir von diesen Meerschweinchen Nr. 5. Zu gleicher Zeit erhielt Meerschweinchen Nr. 3 5 ccm Pferdeserum intraperitoneal. Das Tier zeigte alle Merkmale des anaphylaktischen Shocks: Temperatursturz um 2,5°, Krämpfe, Paresen; nach 15 Minuten war es moribund und wurde schnell entblutet. In den peripheren Gefäßen fand sich außerordentlich wenig Blut, eine Beobachtung, die bei sämtlichen beobachteten Fällen von anaphylaktischem Shock gemacht wurde. Bei der Sektion ist die Lunge stark gebläht. Tabelle III zeigt die Einwirkung der

von diesen beiden Tieren gewonnenen Sera auf Pferdeserum. Gleichzeitig wurde festgestellt, daß die Sera ohne Zusatz ihre Anfangsdrehung nicht änderten.

Tabelle III.



Von drei weiteren Kaninchen, Nr. 6, 7, 8, wurde das eine, Nr. 8, am 25. Oktober, also 20 Tage nach der ersten Injektion, entblutet, die beiden anderen erhielten intraperitoneal 5 ccm Pferdeserum. Bei Nr. 6 zeigten sich mäßig stark die Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks: Dyspnoe, partielle Parese, sehr starke Unruhe. Das Tier wurde 30 Minuten nach der Injektion getötet. Bei Nr. 7 waren die anaphylaktischen Erscheinungen sehr stark ausgebildet. Schon nach 5 Minuten war das Tier moribund. Es wurde nach 16 Minuten getötet. Tabelle IV und V zeigen die Einwirkung der drei Sera auf Seidenpepton. Die Kurven zeigen große Übereinstimmung. Ohne Zusatz zeigten die Sera keine Veränderung ihrer Anfangsdrehung.

Tabelle IV.

6a) 0,25 ccm Serum 6, 0,5 > Seidenpeptonlösung (10%), 6,75 > physiol. Kochsalzlösung.	8a) 0,25 ccm Serum 8. 0,5 > Seidenpeptonlösung (10%), 6,75 > physiol. Kochsalzlösung.
6b) 0,25 ccm Serum 6, 7,25 > physiol. Kochsalzlösung.	8b) 0,25 ccm Serum 8, 7,25 > physiol. Kochsalzlösung.

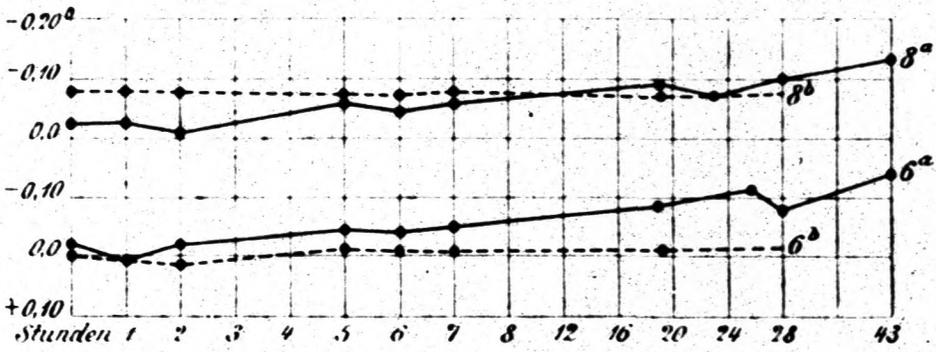
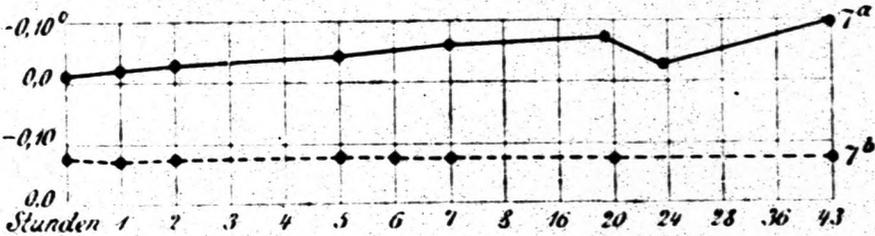


Tabelle V.

- | | |
|--|---------------------------------|
| 7 a) 0,25 ccm Serum 7, | 7 b) 0,25 ccm Serum 7, |
| 0,5 > Seidenpeptonlösung (10 ⁰ /o), | |
| 6,75 > physiol. Kochsalzlösung, | 7,25 > physiol. Kochsalzlösung. |



Versuchsreihe 3.

Die Meerschweinchen Nr. 10 und 11 dieser Serie wurden nach 22 Tagen (am 27. Okt.) geprüft. Nr. 11 wurde ohne weitere Behandlung entblutet, Nr. 10 erhielt 5 ccm Pferdeserum intraperitoneal. Bei diesem stellten sich die charakteristischen Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks ein. Tabelle VI zeigt die Einwirkung dieser Sera auf Seidenpepton, Tabelle VII auf Pferdeserum. Es wurde dabei geprüft, ob der Abbau von eine halbe Stunde auf 60° erwärmtem (inaktivem) Pferdeserum vielleicht Unterschiede gegenüber dem Abbau von nicht erwärmtem Pferdeserum durch das gleiche Meerschweinchenserum aufweist. Als Kontrolle wurde stets das Verhalten des Meerschweinchensersums ohne Zusatz verfolgt.

Tabelle VI.

- | | |
|--|--|
| a) 0,25 ccm Serum 10, | c) 0,25 ccm Serum 11, |
| 0,5 > Seidenpeptonlösung (10 ⁰ /o), | 0,5 > Seidenpeptonlösung (10 ⁰ /o), |
| 6,75 > physiol. Kochsalzlösung. | 6,75 > physiol. Kochsalzlösung. |
| b) 0,25 ccm Serum 10, | d) 0,25 ccm Serum 11, |
| 7,25 > physiol. Kochsalzlösung. | 7,25 > physiol. Kochsalzlösung. |

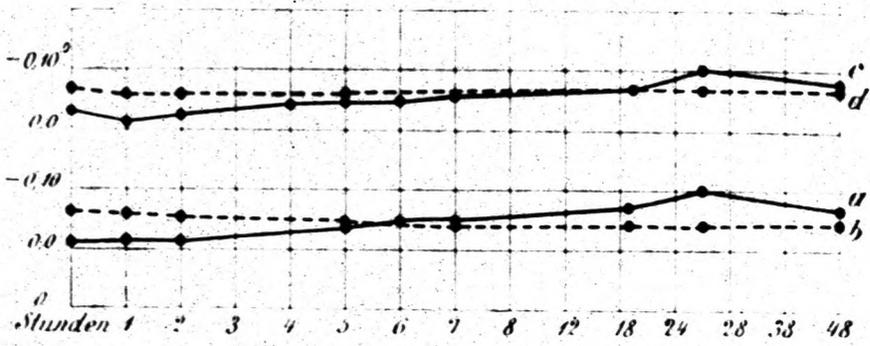
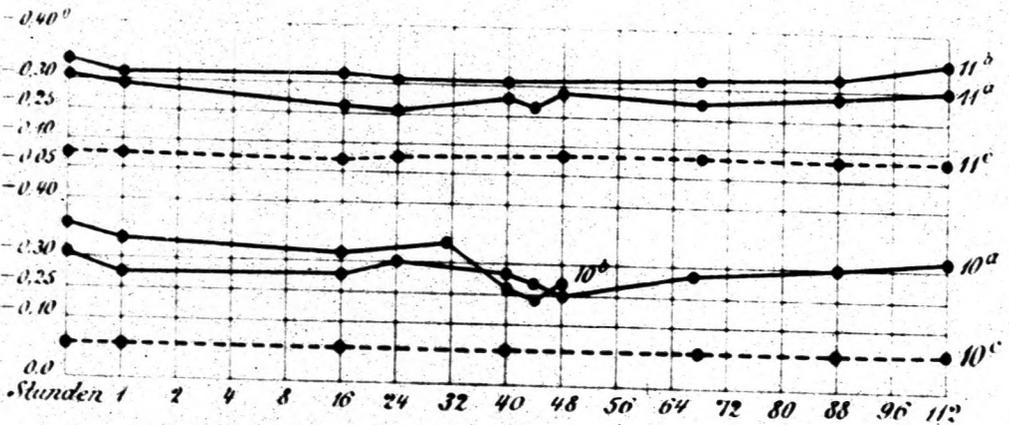


Tabelle VII.

- | | |
|--|--|
| 10a) 0,25 ccm Serum 10,
0,5 » Pferdeserum,
6,0 » physiol. Kochsalzlösung. | 11a) 0,25 ccm Serum 11,
0,5 » Pferdeserum,
6,0 » physiol. Kochsalzlösung. |
| 10b) 0,25 ccm Serum 10,
0,5 » Pferdeserum, inaktiv,
6,0 » physiol. Kochsalzlösung. | 11b) 0,25 ccm Serum 11,
0,5 » Pferdeserum, inaktiv,
6,0 » physiol. Kochsalzlösung. |
| 10c) 0,25 ccm Serum 10,
6,5 » physiol. Kochsalzlösung. | 11c) 0,25 ccm Serum 11,
6,5 » physiol. Kochsalzlösung. |



Versuchsreihe 4.

Drei Meerschweinchen Nr. 12, 13, 14 erhielten am 9. Oktober 1910 1 ccm Pferdeserum 1 : 100. Am 14. November wurde Nr. 14 entblutet. Nr. 12 und 13 erhielten je 5 ccm Pferdeserum intraperitoneal. Es traten bei beiden die charakteristischen Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks auf. Nr. 12 wurde nach 14 Minuten, Nr. 13 nach 23 Minuten getötet. Da von beiden Tieren nur sehr wenig Blut gewonnen werden konnte, mußten zur Feststellung des Verhaltens des Serums gegenüber Seidenpepton und Pferdeserum die Sera beider Versuchstiere vereinigt werden. Tabelle VIII zeigt die Einwirkung auf Seidenpepton und Pferdeserum. Zur Kontrolle wurde das optische Verhalten der Sera ohne Zusatz beobachtet.

Tabelle VIII.

- 12a) 0,25 ccm Serum 12 u.13 gemischt, 14a) 0,25 ccm Serum 14.
 0,5 » Seidenpeptonlösung (10%), 0,5 » Seidenpeptonlösung (10%).
 6,0 » physiol.Kochsalzlösung. 6,0 » physiol.Kochsalzlösung.
- 12b) 0,25 ccm Serum 12 u.13 gemischt, 14b) 0,25 ccm Serum 14.
 0,5 » Pferdeserum, 0,5 » Pferdeserum.
 6,0 » physiol.Kochsalzlösung. 6,0 » physiol.Kochsalzlösung.
- 12c) 0,25 ccm Serum 12 u.13 gemischt, 14c) 0,25 ccm Serum 14.
 6,5 » physiol.Kochsalzlösung. 6,5 » physiol.Kochsalzlösung.

