

Biologische Untersuchungen über Schwangerschaft.

Die Diagnose der Schwangerschaft mittels der optischen Methode und dem Dialysierverfahren.

Von

Emil Abderhalden und Miki Kiutsi.

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 25. Februar 1912.)

Bereits im Jahre 1906¹⁾ hat der eine von uns darauf hingewiesen, daß man außer artfremden und individuell-fremden Stoffen ohne Zweifel auch solche des eigenen Körpers zu unterscheiden hat, die **blutfremd** wirken. Die Darmwand läßt unter normalen Umständen nur bluteigen gemachte Stoffe in die Blutbahn übertreten, und ebenso geben die einzelnen Körperzellen nur solche Produkte an das Blut ab, die die zellspezifische Struktur eingebüßt haben.²⁾ Das Studium des Verhaltens von parenteral zugeführten Stoffen führte zum Resultate, daß der Organismus diesen durch fermentativen Abbau in der Blutbahn ihren speziellen Charakter zu nehmen bestrebt ist. Wir beobachteten nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker das Auftreten von Invertin im Blut. Spritzen wir Eiweißkörper oder höher molekulare Peptone unter die Haut oder in die Blutbahn, dann erscheinen Fermente im Plasma, die imstande sind, diese fremdartigen Stoffe abzubauen. Führen wir Fette ohne vorbereitenden Abbau im Darmkanal zu, dann steigt sofort das Fettspaltungsvermögen des Blutes. Es genügen schon geringste Mengen von Fremdstoffen, um diese Reaktion hervorzurufen.²⁾

Diese Studien brachten den einen von uns auf die Vermutung, daß es möglich sein könnte, mit den gleichen Methoden körpereigene, jedoch blutfremde Stoffe nachzuweisen. Sollten nicht auch solche Stoffe zur Fermentbildung anregen? Das beste Objekt für derartige Studien mußte die Schwanger-

¹⁾ Emil Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, I. Aufl., S. 292, 1906.

²⁾ Vgl. hierzu: Emil Abderhalden, Synthese der Zellbausteine in Pflanze und Tier. J. Springer, 1912. In dieser Übersicht sind alle einschlägigen Arbeiten aufgeführt.

schaft abgeben.¹⁾ Nach den Untersuchungen von Schmorl, Weichardt und Veit wissen wir, daß während der Schwangerschaft im Blute Chorionzottenbestandteile kreisen. Sollte der Organismus diese unzweifelhaft blutfremden Bestandteile nicht auch durch Abbau denaturieren und die entstehenden Abbaustufen von neuem verwerten?

Schon in einer früheren, gemeinsam mit Freund und Pincussohn²⁾ durchgeführten Arbeit wurde das Verhalten des Blutes Schwangerer und Nichtgravider gegenüber von aus Placenta bereitetem Pepton studiert. Es wurde ausschließlich mit der optischen Methode gearbeitet.³⁾ Blutserum von normalen Nichtschwangeren mit Placentapepton zusammengebracht, zeigt ein bestimmtes Drehungsvermögen, das sich selbst nach Tagen nicht ändert. Verwendet man an Stelle des Serums Nichtgravider solches von Graviden, dann verändert sich die Anfangsdrehung deutlich, und zwar gilt dies von allen Monaten der Schwangerschaft.

Wir deuten diese Beobachtung in Übereinstimmung mit den Feststellungen nach parenteraler Zufuhr von Eiweiß resp. Peptonen im Sinne eines Abbaues des zugesetzten Peptons durch im Blute der Schwangeren vorhandene Fermente. Man kann sie als **Schutzfermente** auffassen. Sie verhindern durch raschen Abbau der Bestandteile der Chorionzottenzellen die Anhäufung blutfremder Bestandteile im Blut. Man könnte daran denken, daß die erwähnten Fermente durch Autolyse der Chorionzellen frei werden, und wir mit unserer Methode deren Wirkung beobachten. Es scheint uns dies nicht sehr wahrscheinlich.

¹⁾ Vgl. Emil Abderhalden. Die Anwendung der optischen Methode auf dem Gebiete der Immunitätsforschung. Medizin. Klinik, Jg. 1909. Nr. 41.

²⁾ Emil Abderhalden, R. Freund und Ludwig Pincussohn. Serologische Studien mit Hilfe der optischen Methode während der Schwangerschaft und speziell bei Eklampsie. Praktische Ergebnisse der Geburtshilfe und Gynäkologie, II. Jg., II. Abt., S. 367. 1910.

³⁾ Vgl. Emil Abderhalden. Die optische Methode und ihre Verwendung bei biologischen Fragestellungen. Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, herausgegeben von Emil Abderhalden, Bd. 5, S. 575. 1911.

Einmal konnten wir bei nichtschwangeren Tieren, Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen, die gleichen Fermentwirkungen durch intravenöse Injektion von Placentapepton, Placentapreßsaft resp. -extrakt und von gekochtem Placentaeiweiß hervorrufen. Ferner fanden sich die Fermente in allen Fällen zu jeder Zeit der Schwangerschaft. Da nun die Zellen der Chorionzotten nicht fortwährend fortgespült werden, wäre es nicht zu verstehen, wieso sich die durch Zerfall der Zellen frei werdenden Fermente so lange im Blute halten sollten. Immerhin muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die intrazellulären Fermente der Chorionzotten auch beim Abbau des Zellmaterialies in der Blutbahn eine Rolle spielen.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß es möglich ist, mit der optischen Methode die Schwangerschaft mit großer Sicherheit aus dem Blut zu diagnostizieren. Wir haben uns von Herrn Geh.-Rat Veit Blutproben von Schwangeren und Nichtschwangeren geben lassen, ohne daß wir Kenntnis von der Herkunft der einzelnen Proben hatten. Wir prüften das Verhalten gegen Placentapepton im Polarisationsapparat. Ein Teil der Sera spaltete, der andere nicht. Der Vergleich mit der Herkunft der Proben ergab dann ausnahmslos, daß die spaltenden Proben von Schwangeren stammten und die letzteren von Nichtgraviden. Eine Täuschung oder eine Beeinflussung war durch diese Maßnahmen ausgeschlossen.

Die Durchführung der optischen Methode bietet gewisse Schwierigkeiten. Die Ablesungen erfordern eine große Übung. Ferner gehört zu derartigen Untersuchungen ein sehr guter Polarisationsapparat. Die Hauptschwierigkeit bereitet die Darstellung des Peptons aus Placenta. Wir gewannen dieses durch partielle Hydrolyse von sorgfältig entbluteten Placenten von Menschen mit 70%iger Schwefelsäure bei Zimmertemperatur. Nach 4 Tagen wurde das Hydrolysat unter Kühlung mit Eis mit dem zehnfachen seines Volumens an destilliertem Wasser versetzt und dann die Schwefelsäure mit Baryt quantitativ entfernt. Der Baryumsulfatniederschlag wurde abgenutscht, wiederholt in der Reibschale mit destilliertem Wasser zerrieben und dann die gesamten Filtrate bei 40° des Wasserbades bei ca. 15 mm

Druck bis zum dicken Sirup eingedampft. Während des Eindampfens wurde immer wieder von Zeit zu Zeit geprüft, ob die Flüssigkeit frei von Schwefelsäure resp. Baryt war. Diese Vorsichtsmaßregel ist sehr wichtig, weil sonst bei stärkerer Konzentration eine weitere Hydrolyse des Peptons durch die Säure resp. Base bewirkt werden kann. Der verbleibende Sirup ist gelb gefärbt. Er wird am besten in Methylalkohol unter Erhitzen gelöst und die heiße Lösung in absoluten Äthylalkohol eingetragen. Das Pepton fällt dann als gelbliches Pulver. Zur weiteren Reinigung wird es in soviel Wasser gelöst, daß eine 5%ige Lösung davon erhalten wird. Dann setzt man so lange von einer 10%igen Phosphorwolframsäurelösung zu, als eine Fällung eintritt. Der Niederschlag wird abgenutscht, scharf abgepreßt, wiederholt mit Wasser gewaschen und dann in einer Reibschale mit dem Zweifachen seines Gewichtes an Baryt zerrieben. Es wird wieder filtriert. Aus dem Filtrat entfernt man den Überschuß an Baryt mit Schwefelsäure und verdampft das Filtrat vom Baryumsulfat unter vermindertem Druck bei 40° des Wasserbades zur Trockene. Der schneeweiße Rückstand läßt sich meistens direkt pulvern. Jedenfalls wird er beim Anreiben mit absolutem Alkohol fest.

Leider ist die Darstellung des Placentapeptons keine so exakte, daß man selbst bei genauer Befolgung der Methodik stets das gleiche Produkt erhält. Die wesentlichsten Störungen sind durch die verschieden rasche Verarbeitung gegeben. Das Pepton kann im Laufe der einzelnen Phasen der Darstellung weiter gespalten werden. Als ungeeignet für die optische Methode erwiesen sich Peptone, die zu tief abgebaut sind. Ferner erhielten wir wiederholt Peptone, die mit dem Serum Schwangerer und nur mit diesem Präzipitation gaben. Entweder trat sofort eine Trübung auf oder erst im Laufe einiger Stunden. Jede Trübung — auch eine solche leichtesten Grades — stört das Ablesen der Drehung außerordentlich. Die Resultate werden unsicher, weshalb jede Probe, sobald sich die leiseste Trübung zeigt, zu verwerfen ist. Das Placentapepton muß ein nicht zu kleines Drehungsvermögen haben und vor allem beim fermentativen Abbau deutliche Ausschläge zeigen. Am besten prüft man das Pepton mit Hilfe von Preßsaft von Hefezellen und verfolgt den Abbau im Polarisationsrohr.

Wir haben zunächst eine größere Anzahl von Sera Schwangerer und Nichtschwangerer auf Placentapepton einwirken lassen. Wir benützten zum Teil das Serum direkt, nachdem es aus dem Blutkuchen ausgepreßt worden war, zum Teil wurde das Serum durch den von Uhlenhut-Weidanz angegebenen Filtrierabfüllapparat geschickt und dadurch von etwa vorhandenen Keimen befreit. Alle Gefäße wurden sterilisiert und ebenso die Polarisationsröhren. Das Placentapepton wurde durch Kochen steril gemacht. Kleine Unterschiede in den einzelnen Ablesungen werden oft gefunden. Wir haben nur Unterschiede in der Ablesung von $0,05^{\circ}$ an als wirkliche Veränderungen gelten lassen. Die einzelnen Befunde wurden wiederholt von verschiedenen Herren des Institutes kontrolliert. Wir beobachteten Änderungen von $0,2$ und mehr Grad. Niemals erhielten wir bei Verwendung von Serum Nichtgravider eine Spaltung. Wurde aktives Serum von Graviden auf 60° erwärmt, dann wurde es inaktiv. Die erhaltenen Resultate sind auf der folgenden Tabelle übersichtlich zusammengestellt. Bemerket sei noch, daß bei Eklampsie das Spaltvermögen ein besonders großes war. Bei Föten fehlte es ganz. Serum von Fötalblut war stets unwirksam.

Wir haben ferner das Serum von schwangeren Meerschweinchen auf Placentapepton einwirken lassen. Es trat Spaltung ein. Das Serum nichtschwangerer Tiere erwies sich als inaktiv.

Was die Ausführung der Versuche anbetrifft, so sei auf die ausführliche Mitteilung der Methodik derartiger Untersuchungen des einen von uns verwiesen.¹⁾ Wir verwendeten zumeist eine $0,5$ — $2,5$ % ige Placentapeptonlösung. Das Pepton wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Zu 1 ccm der Lösung gaben wir 1 ccm Serum. Den Rest des Inhaltes des Polarisationsrohres füllten wir mit physiologischer Kochsalzlösung. Nun wurde die Drehung festgestellt, dann das Rohr in den Brutschrank gestellt und die Ablesung nach einer Stunde wiederholt. Bei späteren Versuchen wurde die Ablesung nur alle 6 — 8 Stunden vorgenommen. Es empfiehlt sich nicht, die Ablesung über 48 Stunden auszudehnen. Verwendet man verschiedene Mengen

¹⁾ Emil Abderhalden, l. c., Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Bd. 5, 1. Teil, 1911.

von Serum und verschieden lange Polarisationsröhren, dann muß man selbstverständlich die erhaltenen Resultate umrechnen, falls man die einzelnen Versuche unter sich vergleichen will. Im allgemeinen wird man eine Serie von Versuchen immer unter genau den gleichen Bedingungen durchführen. In allen Fällen müssen Kontrollversuche mit Serum allein und der Peptonlösung allein durchgeführt werden. Erwähnt sei noch, daß der Versuch, an Stelle von Pepton Placentapreßsaft — nach der Methode von Buchner bereitet — oder ein Extrakt aus Placenta zu verwenden, bis jetzt keinen Erfolg hatte. Das Serum Schwangerer spaltete nicht. Es ist wohl möglich, daß die verwendeten Lösungen einen zu geringen Gehalt an Eiweiß hatten, oder es waren hemmende Stoffe zugegen.

Im Anschluß an diese Versuche prüften wir das Verhalten des Serums von Tieren, denen intravenös oder intraperitoneal Placentapreßsaft oder Placentapepton eingespritzt worden war. Auch ein Extrakt wurde benutzt. Dieses wurde erhalten durch Zerreiben von Placentagewebe mit Quarzsand und Auslaugen des Breies mit der 10fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung. Als Versuchstiere dienten Hunde, Kaninchen und Meerschweinchen. Zunächst wurde bei normalen Tieren das Verhalten des Blutserums gegen Placentapepton untersucht. Dann wurde das Placentapreparat gespritzt und der Versuch mit dem Serum wiederholt. Die drei Hunde, die zu diesen Versuchen verwandt wurden, erhielten 2mal je 1 g Placentapepton, dargestellt aus Menschenplacenta, intraperitoneal an zwei aufeinanderfolgenden Tagen. Das Blut wurde 8 Tage nach der letzten Injektion entnommen und das Serum sofort auf sein Verhalten gegenüber Placentapepton geprüft. Es trat in allen drei Versuchen Spaltung ein.

Bei den Kaninchen wurden 5 Tiere ohne Vorbehandlung untersucht und 6 nach erfolgter intravenöser Einspritzung von 2—3,5 ccm Placentapreßsaft. Im ganzen wurde 4mal gespritzt und dann nach einem Intervall von 6 Tagen nach der letzten parenteralen Zufuhr Blut entnommen. Das Resultat war stets dasselbe: Ohne Einspritzung keine Spaltung, nach Einspritzung Abbau des Placentapeptons durch das Serum.

Endlich haben wir bei Meerschweinchen den gleichen Versuch ausgeführt, nur wurde hier Placentaextrakt von Meerschweinchen gespritzt und zwar in eine Schenkelveue. Wir verwendeten 0,6 ccm davon zu jeder Injektion. Stets trat nach der Einspritzung Spaltvermögen des Serums auf.

Bemerkt sei, daß wir ausschließlich aus Menschenplacenta bereitetes Pepton zu den Spaltversuchen verwendet haben.

Die bei den Tierversuchen erhaltenen Resultate decken sich somit vollständig mit den am Menschen gemachten Beobachtungen.

War die Annahme richtig, daß die von uns mit Hilfe der optischen Methode festgestellten Fermente des Blutserums Schwangerer die Aufgabe haben, blutfremde Bestandteile abzubauen, dann mußte es möglich sein, den Abbau auch durch Dialyse nachzuweisen. Wir stellten folgende Versuche an. In kleine Dialysierschläuche — bereitet aus Fischblasenkondoms — gaben wir: 1. Serum von Schwangeren, 2. solches von nicht Schwangeren, 3. gekochte Placentastückchen, 4. gekochte Placentastückchen plus Serum von Schwangeren, 5. gekochte Placentastückchen plus Serum Nichtgravider, 6. gekochte Placentastückchen plus Serum von Eklamptischen, 7. erstere plus Serum vom Fötus, 8. idem plus auf 60° erwärmtes Serum von Schwangeren.

Wir dialysierten gegen destilliertes Wasser und prüften nach 24 Stunden die Außenflüssigkeit auf biuretgebende Substanzen. Diese Probe führten wir, wie folgt, aus: Das Dialysat wurde in ein kleines Reagenzglas übergeführt. Zu der Lösung setzten wir 1 ccm 33% iger Natronlauge, schüttelten um und fügten nunmehr vorsichtig tropfenweise eine sehr stark verdünnte Kupfersulfatlösung hinzu. Diese Lösung darf nur eben angedeutet blau gefärbt sein. Man erhält dann auf der Oberfläche der im Reagenzglas befindlichen Flüssigkeit einen blau gefärbten Ring. Einzig und allein bei Probe 4 und 6 trat Rotviolett-färbung ein. Es hatten sich somit unter dem Einfluß des Serums der Schwangeren und der Eklamptischen Peptone aus den Proteinen der gekochten Placenta gebildet. Dieses Resultat wurde stets wieder erhoben. Das Dialysierverfahren gab Resultate,

die mit den mit Hilfe der optischen Methode erhaltenen stets übereinstimmten.

Wir haben das Placentagewebe absichtlich gekocht, weil wir auf diese Weise etwa in der Placenta vorgebildete biuretgebende Körper entfernen konnten. Die Placenta wurde in kleine etwa erbsengroße Stücke zerschnitten und dann die ganze Masse 30 Minuten in kochendem Wasser belassen. Nun wurde abfiltriert und so lange mit Wasser gewaschen, bis das Filtrat keine Spur einer Biuretreaktion mehr gab. Die Stückchen wurden dann in Wasser suspendiert, das mit Chloroform gesättigt war. Außerdem bedeckten wir die Flüssigkeit mit Toluol und stellten dann die Mischung in einer gut verschlossenen Flasche in den Eisschrank. Vor dem Gebrauch wurden die Stückchen gut gewässert. Dann gaben wir einige davon in den kleinen, sicher dichten (!!) Dialysierschlauch, ferner fügten wir 2 ccm Serum hinzu und tauchten dann den Schlauch in einem kleinen Erlenmeyer in Wasser. Es genügen 10—20 ccm Wasser.

Diese einfache Methode, die als **Dialysierverfahren** bezeichnet sei, ermöglicht es, die Diagnose der Schwangerschaft mit, wie es nach den bisherigen Erfahrungen scheint, größter Sicherheit zu stellen. Wenigstens haben wir bis jetzt keine Fehldiagnose zu verzeichnen. Eine Kontrolle mit Hilfe der optischen Methode ist erwünscht.

Die optische Methode und das Dialysierverfahren geben uns einen Einblick in Vorgänge im Blute Schwangerer, die bis jetzt nur vermutet werden konnten. Die erhaltenen Resultate zeigen, daß das Blut Schwangerer auf blutfremde Stoffe eingestellt ist. Es wird alles Fremdartige durch Abbau unschädlich gemacht. Dieser Vorgang erklärt vielleicht mancherlei Erscheinungen während der Schwangerschaft, wie das Auftreten von Übelkeit, Erbrechen usw. Mangelhafter Abbau oder umgekehrt Anhäufung von Abbauprodukten usw. können bestimmte Folgen nach sich ziehen.

Wie der eine von uns schon wiederholt betont hat, dürfte das Eindringen anderer blutfremder Stoffe in das Blut gleich-

Virgo	Non Gravid		Gravida in verschiedenen Monaten										Kreis- sende	Eklampsie			Wöch- nerin		Foe- ten	Kaninchen		Hund		Meerschweinchen	
	1. M.	2. M.	3. M.	4. M.	5. M.	6. M.	7. M.	8. M.	9. M.	10. M.	Mutter Puerp.	intra part.		Foe- ten	3. T.	7. T.	(5) normal	(6) inji- ziert		(3) nor- mal	(3) inji- ziert	(5) nor- mal	(2) inji- ziert	(2) schwanger	
	-		+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	+	-	++	-	++	-	++	++		
Sterile			++				+	++	++	++	++	++	++		-	+	-	++	-	++	-	++	++		
Sera																									
	-		+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	+	-	++	-	++	-	++	++		
Nicht sterile			++				+	++	++	++	++	++	++		-	+	-	++	-	++	-	++	++		
Sera																									

Anmerkungen: — Schwankung innerhalb 0,04°; + Spaltung 0,05—0,10°; ++ Spaltung bis 0,11—0,20°; +++ Spaltung über 0,20°. Eine Gravida 3 M. (+++), 6 M. u. 8 M. kombiniert mit Tuberkulose; Gravida 5 M. mit Schwangerschaftsnierne.

falls zur Fermentabgabe an das Blut führen. Eine Ausdehnung der geschilderten Versuche auf ein größeres Material wird ohne Zweifel zu interessanten Resultaten führen.

Bemerkt sei noch, daß ohne Zweifel auch andere Schutzfermente, die auf die anderen Bausteine der Zellen der Chorionzotten eingestellt sind, im Plasma Schwangerer sich finden. Wir hatten bis jetzt noch keine Gelegenheit, unsere Versuche nach dieser Richtung auszudehnen. Ferner ist es denkbar, daß man in günstigen Fällen bei der Dialyse von Serum Schwangerer direkt Peptone wird nachweisen können, und ebenso muß dann, wenn im Blute ein Abbau von Chorionzotten statthat, die optische Methode ohne Zusatz von Placentapepton einen Ausschlag geben. Bis jetzt konnten wir nur in zwei Fällen eine Änderung der Anfangsdrehung des Serums von Schwangeren ohne jeden Zusatz feststellen. Es war in diesen Fällen das Blut offenbar in einem Momente entnommen worden, in dem Chorionzottenzellen im Plasma vorhanden und im Abbau begriffen waren.

Endlich sei noch hervorgehoben, daß die Möglichkeit vorliegt, daß bei Carcinom usw. das Serum auch ein Spaltvermögen zeigt. Jedesmal, wenn blutfremdes Material ins Blut eindringt, reagiert der Körper mit Schutzfermenten. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob hier die Bildung spezifischer Fermente, d. h. auf die einzelnen Substrate angepaßter Fermente vorliegt. Nach vorläufigen Versuchen scheint das der Fall zu sein.

Nicht ohne Interesse ist die Beobachtung, daß das Pepton aus Menschenplacenta von Serum schwangerer Frauen in anderer Richtung abgebaut wurde, als von Tieren, denen Placentaextrakt resp. -preßsaft eingespritzt worden war. Es sind noch eine große Anzahl von einzelnen Problemen zu bearbeiten, bis ein klarer Einblick in die Bildung und die Bedeutung der Schutzfermente möglich sein wird. Weitere Untersuchungen im hiesigen Institut mit trächtigen und nichtträchtigen Tieren sind im Gange.

Es ist uns eine angenehme Pflicht, Herrn Geh.-Rat Prof. Dr. Veit, Halle a. S., für die Überlassung von Material unseren herzlichsten Dank auszusprechen.