

Weiterer Beitrag zur biologischen Feststellung der Schwangerschaft.

Von
Emil Abderhalden.

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

(Der Redaktion zugegangen am 30. August 1912.)

Ausgehend von der Anschauung, daß zwar körpereigene, jedoch blutfremde Stoffe in gleicher Weise, wie vollständig fremdartige bewirken, daß Fermente mobil gemacht werden, die einen Abbau der ins Blut eingedrungenen, kompliziert gebauten Stoffe bewirken, haben wir nach solchen Fermenten bei der Schwangerschaft gesucht.¹⁾ Sie wurden dadurch zur Anschauung gebracht, daß wir das Blutplasma resp. -serum auf Placenta-eiweiß resp. auf Placentapepton einwirken ließen, und den eintretenden Abbau einerseits durch Beobachtung des Drehungsvermögens des Plasma- resp. Serums substratgemisches feststellten und anderseits im Dialysierversuch die sich aus koaguliertem Eiweiß bildenden Peptone mittels der Biuretprobe im Dialysat nachwiesen. Die Verfolgung des Drehungsvermögens gestattet qualitative und quantitative Beobachtungen. Der Abbau ein und desselben Peptons braucht nicht immer in der gleichen Richtung und gleich rasch zu verlaufen. Beim Dialysierverfahren fallen qualitative Beobachtungen ganz weg. Das Dialysierverfahren hat jedoch den großen Vorteil, daß es ohne besondere Apparate und an Stelle des Peptons mit dem koagulierten Placenta-eiweiß durchgeführt werden kann. Einige Schwierigkeiten bereitet immerhin die exakte, eindeutige Erkennung der Biuretreaktion. Sie erfordert Übung. Wir haben, um die ganze Ausführung der biologischen Schwangerschaftsreaktion noch einfacher und zuverlässiger zu gestalten, nach Reagenzien zum Peptonnachweis gesucht, die schärfere Farbenreaktionen geben, als es bei der Biuretreaktion der Fall ist. Die meisten Rea-

¹⁾ Vgl. hierzu: Emil Abderhalden, Schutzfermente des tierischen Organismus. J. Springer, Berlin, 1912.

genzien erwiesen sich als unsicher, d. h. sie ergaben sehr oft auch positive Resultate, wenn sicher keine Schwangerschaft vorlag. Am besten bewährte sich das von uns schon früher angewandte, von Ruhemann dargestellte Triketohydrindenhydrat. Diese Verbindung ist zwar kein typisches Reagens auf Peptone, es gibt vielmehr mit allen Verbindungen eine charakteristische Farbreaktion, die in α -Stellung eine NH_2 -Gruppe und mindestens ein Carboxyl besitzen. Aminosäuren, Polypeptide, Peptone und Proteine geben mit Triketohydrindenhydrat in wässriger Lösung erhitzt eine prachtvolle Blaufärbung. Dialysiert man Blut, dann erhält man bei genügender Konzentration des Dialysates immer eine positive Reaktion beim Kochen mit Triketohydrindenhydrat. Es läßt sich somit dieses Reagens nicht ohne Berücksichtigung ganz besonderer Kautelen anwenden. Es sei deshalb ein Versuch ausführlich beschrieben.

1. Bereitung des koagulierten Placentaeiweißes.

Die frische Placenta wird entweder als Ganzes oder nach erfolgter Entfernung der mütterlichen Anteile in zirka markgroße Stücke zerschnitten. Diese werden in einer Schale so lange in strömendem Wasser gewaschen, bis alles Blut entfernt ist. Der ganze Prozeß nimmt 5 bis höchstens 10 Minuten in Anspruch. Während des Spülens hat man bereits in einem Topf oder in einer Schale ca. 2 l Wasser, dem man 2 Tropfen Eisessig zusetzt, zum Sieden erhitzt. In das kochende Wasser wirft man nun die Placentastücke und kocht 1 Minute lang. Das Kochwasser wird dann abgegossen — abdekantiert oder durch ein Filter gegossen — und die koagulierten Placentastückchen nochmals mit Eisessig enthaltendem Wasser 5 Minuten lang gekocht. Man prüft nun das Kochwasser mittels der Biuretreaktion (zu 10 ccm des Kochwassers gibt man 5 ccm 33%ige Natronlauge, schüttelt durch und überschichtet mit einer 0,4%igen Kupfersulfatlösung). Die Reaktion ist, wenn man sich genau an die Vorschrift gehalten hat, immer negativ. Sollte sie noch positiv sein, dann müßte man das Kochwasser nochmals wechseln. Ist die Biuretreaktion negativ, dann gießt man das Kochwasser nebst den Placentastückchen in eine weit-

halsige Flasche. Nach erfolgtem Aufgießen einer Schicht von Toluol wird die Flasche sorgfältig verschlossen. Das so vorbereitete Material ist sehr lange, fast unbegrenzt, haltbar.

2. Gewinnung des Blutserums.

Man kann zu den Dialysierversuchen Blutplasma oder -serum verwenden. Wir ziehen der einfacheren Gewinnung wegen das Serum vor. Das aus der Vene entnommene Blut wird direkt in einem sterilisierten Zentrifugierröhrchen aufgefangen. Man läßt es unter Watteverschluß gerinnen. Preßt sich nicht in kurzer Zeit genügend Serum aus, dann wird zentrifugiert. Das Serum darf unter keinen Umständen hämoglobin-haltig sein. Hämolytisches Serum ist immer zu verwerfen. Es genügen 2—3 ccm Serum. Das Serum muß ganz frisch sein. Alles Schütteln ist zu vermeiden.

3. Ausführung des Dialysierversuches.

Als Dialysierschlauch hat sich uns die Diffusionshülse Nr. 579 von Schleicher und Schüll, Düren (Rheinland), am besten bewährt. Man prüfe alle Hülsen einmal mit Eiereiweiß oder Serum auf ihre Undurchlässigkeit für Kolloide. Dann stelle man mittels Pepton Witte bei jeder einzelnen Hülse fest, ob sie Peptone durchläßt. Diese Prüfung ist sehr wichtig, denn manche Hülsen sind zu dicht. Vor dem Gebrauch werden die Hülsen in Wasser gelegt. Am besten bewahrt man sie in Wasser, das mit einer Schicht Toluol überdeckt wird, auf. Die Hülsen können zu vielen Versuchen gebraucht werden.

In eine so vorbereitete und geprüfte Hülse gibt man nun ca. 1 g des koagulierten Placentagewebes. Dieses wird der Aufbewahrungsflasche entnommen und darauf in zirka linsen-große Stückchen zerrissen und diese in die Hülse geworfen. Dann gibt man 2—3 ccm Serum hinzu. Das Placentagewebe muß am Grunde des Schlauches ruhen und vom Serum durch-tränkt sein. Eine wesentliche Fehlerquelle liegt in dem Um-stande, daß beim Einfüllen des Placentagewebes resp. des Serums etwas am Rande der Hülse auf der Außenseite hängen bleiben kann. Aus diesem Grunde mache man es sich zur Regel, den

Schlauch nach erfolgter Beschickung tüchtig mit Wasser abzuspülen. Am einfachsten hält man den Schlauch am offenen Ende mit zwei Fingern zu und hält ihn dann unter den geöffneten Wasserhahn. Jetzt wird der Schlauch in ein geeignetes Gefäß gestellt, das 15—20 ccm Wasser enthält. Das Gefäß muß so eng sein, daß die Außenflüssigkeit mindestens so hoch steht, wie der Schlauchinhalt im Inneren des Schlauches reicht.

Nunmehr fügt man dem Schlauchinhalt und der Außenflüssigkeit soviel Toluol zu, daß eine dünne Schicht davon die Flüssigkeiten bedeckt. Man läßt nun bei 37° 16 Stunden dialysieren.

Prüfung auf eingetretene Spaltung mittels Triketohydrindenhydrat: Vom Dialysat entnimmt man mit einer Pipette 10 ccm, wobei man zu vermeiden hat, daß Toluol mitgenommen wird. Jetzt gibt man 0,2 ccm einer 1%igen wässerigen Lösung von Triketohydrindenhydrat hinzu und ferner einen Siedestab. Man erhitzt rasch zum Kochen und unterhält dieses genau eine Minute. Ist die Reaktion negativ, dann bleibt die Lösung entweder farblos oder sie färbt sich hellgelb. Bei positiver Reaktion tritt entweder sofort oder nach kurzem Stehen eine mehr oder weniger tiefblaue Färbung ein.

Wir fanden nun, daß unter den gegebenen Bedingungen Serum von Nichtschwangeren nie eine positive Reaktion gab, während solches von Schwangeren ausnahmslos Blaufärbung beim Kochen mit Triketohydrindenhydrat zeigte. Wir haben stets gleichzeitig die optische Methode angewandt und auch in vielen Fällen die Biuretreaktion mit herangezogen. Es handelte sich fast ausnahmslos um Fälle, die uns ohne jede Bezeichnung von der Hallenser Frauenklinik zur Diagnose übergeben worden waren. Es ist uns eine große Freude, auch an dieser Stelle Herrn Geh. Rat Veit für sein nie erlahmendes Interesse zu danken. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die diagnostizierten Fälle und zwar beziehen sich die Angaben auf die optische Methode. Wir nahmen wiederum Drehungsänderungen von 0,0—0,04° als negativ an. Eine Änderung der Drehung von 0,05—0,1° ist mit einem + bezeichnet. Zwei + bedeuten eine Änderung um 0,1—0,2° und mehr als 0,2° be-

tragende Veränderungen der Anfangsdrehung sind durch drei + bezeichnet. Die Triketohydrindenhydratreaktion verhielt sich nicht in allen Fällen parallel, was die Intensität der Färbung anbetrifft. Es ist dies darauf zurückzuführen, daß bei tiefgehendem Abbau verschiedenartig drehende Spaltprodukte auftreten können, die sich gegenseitig im Drehungsvermögen stark beeinflussen. Die Stärke des Ausfalls der Triketohydrindenreaktion hängt dagegen in erster Linie von der Zahl der freien NH_2 - und COOH -Gruppen ab.

Wir haben auch eine größere Anzahl von besonderen Fällen untersucht, so von Eklampsie, von unstillbarem Erbrechen, von Schwangerschaftsdermatose, von Tubarschwangerschaft, von Retention von Placentastücken, von Abort usw. Wir zweifeln nach den erhaltenen Resultaten nicht daran, daß die eigenartigen Erscheinungen bei manchen Schwangerschaften, wie das unstillbare Erbrechen usw., ihre Erklärung durch die Art des Abbaus oder doch durch die verschieden rasch erfolgende Spaltung finden wird. Nicht zu vergessen ist auch der Umstand, daß der Organismus entstehende Spaltprodukte nicht allein durch weiteren Abbau, durch Kuppelung usw. unschädlich macht, sondern auch manches Produkt durch die Nieren ausscheidet. Nur bei einer vollwertigen Funktion aller jener Organe, die als Schutzorgane im besonderen Sinne wirken, wie Leber, Nieren, das ganze Lymphsystem, wird es der Schwangeren möglich sein, das blutfremde Material nach jeder Richtung so zu verarbeiten und zu beseitigen, daß schädliche Wirkungen ganz ausbleiben. Findet man bei Eklampsie Veränderungen in bestimmten Organen, dann wird es immer fraglich bleiben, was von den beobachteten Schädigungen primär und was sekundär ist.

Hervorheben möchten wir noch, daß außer den proteolytischen Fermenten auch andere in der Blutbahn der Schwangeren zu erwarten sind, gilt es doch auch Fette aller Art, Nucleoproteide, Polysaccharide usw., kurz alle Bestandteile der in die Blutbahn übergetretenen Chorionzottenzellen zu zerlegen. Es ist wohl denkbar, daß ein mangelhafter Abbau durch eines dieser Fermente auch Störungen nach sich ziehen kann.

Endlich sei betont, daß wir die ganze Forschung auf die Idee aufgebaut haben, daß der Organismus auf die Zufuhr blutfremden Materiales mit der Abgabe von Fermenten reagiert. Es spricht vieles dafür, daß die Fermente von Leukocyten abgegeben werden. Als das blutfremde Material nahmen wir abgerissene Chorionzottenzellen an. Da nun die Reaktion bereits im ersten Monat eintritt, so könnte man sich die Frage vorlegen, ob das Auftreten der beobachteten Fermente nicht eine andere Bedeutung hat. Daß schon im ersten Monat Chorionzotten vorhanden sind, ist durch verschiedene Forscher festgestellt.¹⁾ Fraglich ist nur, ob es schon zur Loslösung von Chorionzottenzellen kommt. Es wäre ja möglich, daß die beobachteten Fermente eine Folge des Stoffaustausches zwischen Mutter und Fötus sind und nur anzeigen, daß weitgehende Umsetzungen erfolgen müssen, ehe Material des mütterlichen Blutes in das Blut des Fötus übertreten kann. Wir heben diese Möglichkeiten nur hervor, um deutlich zu machen, daß die Grundlage des von uns aufgefundenen biologischen Schwangerschaftsnachweises zurzeit immer noch als Arbeitshypothese aufzufassen ist. Es war ein Analogieschluß, der zur Prüfung des Serums von Schwangeren auf Fermente führte. Es war gelungen, solche im Serum nachzuweisen, wenn art- und blutfremdes Material künstlich in die Blutbahn eingeführt wurde.

Schließlich sei noch mitgeteilt, daß wir gemeinsam mit Herrn Dr. Weil auch bei Kühen die Schwangerschaft mit den gleichen Methoden erkannt haben. Die folgende Übersicht gibt die erhaltenen Resultate wieder. Nur in zwei Fällen war eine sichere Entscheidung unmöglich. In beiden handelte es sich um Serum, das nicht mehr ganz frisch war. Wir sind eben dabei, die Versuche auch auf andere Tiere auszudehnen.

¹⁾ Hubert Peters, Die Einbettung des menschlichen Eies. Franz Dentiche, Leipzig-Wien, 1899.

H. Strahl und R. Beneke, Ein junger menschlicher Embryo. J. F. Bergmann, Wiesbaden, 1910.

Thomas R. Bryce und John H. Teacher, Contributions to the study of the early development and imbedding of the human ovum. James Maclehose and Sons, Glasgow, 1908.

Schwangerschaft bei Kühen.

(Mitarbeitet von Herrn Dr. Weil.)

a) Positive Resultate.

1		2		3		4	
4 Jahr. 2 par. Foetus 4. Monat		5 Jahr. 3 par. 7. Monat		6 Jahr. 3 par. 4. Monat		5 Jahr. 3 par. 6. Monat	
Zeit	Ablesung	Zeit	Ablesung	Zeit	Ablesung	Zeit	Ablesung
18. VI.		24. VI.		28. VI.		2. VII.	
10 Uhr	-0,48°	4 Uhr	-0,78°	10 Uhr	-0,82°	9 Uhr	-1,23°
12 „	-0,54°	7 „	-0,72°	1 „	-0,76°	1 „	-1,19°
1 „	-0,55°	25. VI.		7 „	-0,60°	7 „	-1,08°
6 „	-0,57°	8 Uhr	-0,75°				
19. VI.		1 „	-0,72°	29. VI.		3. VII.	
8 Uhr	-0,52°	4 „	-0,71°	8 Uhr	-0,59°	8 Uhr	-1,01°
		26. VI.		7 „	-0,62°	1 „	-1,00°
		9 Uhr	-0,68°				

5		6		7	
4 Jahr. 2 par. 7. Monat		5 Jahr. 3 par. 5. Monat		4 Jahr. 2 par. 3. Monat	
Zeit	Ablesung	Zeit	Ablesung	Zeit	Ablesung
11. VII.		12. VII.		16. VII.	
7 Uhr	-0,66°	8 Uhr	-0,61°	10 Uhr	-0,67°
12. VII.		7 „	-0,75°	1 „	-0,61°
8 Uhr	-0,51°	13. VII.		7 „	-0,62°
1 „	-0,46°	8 Uhr	-0,68°	17. VII.	
7 „	-0,55°	1 „	-0,74°	8 Uhr	-0,55°
13. VII.		7 „	-0,72°	1 „	-0,58°
8 Uhr	-0,52°				

8		9		10		11	
5 Jahr. 2 par. 8. Monat		3 Jahr. 0 par. 1. Monat		6 Jahr. 2 par. 7. Monat		4 Jahr. 2 par. Foetus 3. Monat	
Zeit	Ablesung	Zeit	Ablesung	Zeit	Ablesung	Zeit	Ablesung
23. VII.		30. VII.		30. VII.		2. VII.	
11 Uhr	-0,55°	9 Uhr	-0,65°	9 Uhr	-0,68°	9 Uhr	-0,43°
5 „	-0,71°	1 „	-0,63°	1 „	-0,66°	1 „	-0,41°
24. VII.		31. VII.		31. VII.		7 „	-0,46°
8 Uhr	-0,62°	10 Uhr	-0,61°	10 Uhr	-0,52°	3. VII.	
1 „	-0,64°	7 „	-0,58°	7 „	-0,54°	8 Uhr	-0,44°
						1 „	-0,48°
						7 „	-0,47°

20 Kontrollen ohne Drehungsänderung.

b) Negative Resultate.
Nicht gravide Kühe.

12			13		
4 Jahr. 2 par.			5 Jahr. 2 par.		
Zeit		Ablesung	Zeit		Ablesung
9. VII.	10 Uhr	— 0,84°	16. VII.	10 Uhr	— 0,68°
	1 „	— 0,93°		1 „	— 0,65°
	7 „	— 0,92°		7 „	— 0,65°
10.	8 „	— 0,92°	17.	8 „	— 0,61°
	1 „	— 0,91°		1 „	— 0,63°
	7 „	— 0,93°		7 „	— 0,64°

Zum Schlusse sei noch bemerkt, daß es wiederholt ge-
glückt ist, im Dialysat des Serums von Schwangeren ohne Zu-
satz von Placentagewebe mit Triketohydrindenhydrat eine posi-
tive Reaktion zu erhalten. Offenbar handelte es sich hier um
den Nachweis von im Serum vorhandenen Eiweißabbaustufen.
Erfahrungen am Hunde lassen es als empfehlenswert erscheinen,
die Blutentnahme nüchtern vorzunehmen.