

setzung der Assimilationsgrenze für Zucker braucht natürlich der gesteigerten Irritabilität der Haut nicht parallel zu gehen.

Die mitgetheilten Ergebnisse scheinen mir nach mancher Richtung hin interessant zu sein, zunächst schon als Bestätigung der halbvergessenen Beobachtungen von Knauff und Fürbringer. Wenn wir nun aber annehmen müssen, dass die Eingabe eines Terpens Einfluss auf die Zuckerausscheidung gewinnen kann, so darf man sich wundern, weshalb diese Feststellung nicht öfters gemacht worden ist. Vielleicht ist ein Grund darin zu suchen, dass gerade so, wie vor der allgemeinen Kenntniss der Glykuronsäuren aus der reducirenden Fähigkeit des Urins fälschlich an Stelle dieser Substanzen Zuckerausscheidung angenommen wurde, später umgekehrt die Reduction des Harns nach Terpeneingabe ohne Weiteres auf Glykuronsäure bezogen worden sein mag. Beobachtungen wie die unserigen gewinnen also praktische Bedeutung, indem sie für den gegebenen Fall die genauere Untersuchung und Differenzirung veranlassen, die durch eine sorgfältig ausgeführte Gährungsprobe ohne Schwierigkeit zu erreichen ist.

Die theoretischen Erwägungen, die sich an die mitgetheilten **Facta anschliessen, sind hier nur zu streifen.**

Es wäre an die Frage zu denken, ob etwa der diabetische Organismus die Fähigkeit zur Bildung gepaarter Glykuronsäuren verloren habe. Untersuchungen von Weintraud, die sowohl bei einem sehr schweren Diabetesfalle wie bei einem Hunde angestellt wurden, der durch Pankreasextirpation diabetisch gemacht worden war, haben indess gezeigt, dass wenigstens nach Verabreichung von Chloral, Kampher und α -Naphthol die entsprechenden Glykuronsäuren im Harn auftraten, so dass also die Synthese der Glykuronsäurepaarlinge nicht gestört erschien. Bei unserem Diabetiker deutete die linksdrehende reducirende Substanz, die sich in dem einen Versuchsurin nach Abzug des gährungsfähigen Stoffes fand, auf das Vorhandensein gepaarter Glykuronsäuren hin. Sollte die Frage näher verfolgt werden, so wäre es wohl rathsam, grössere Copaivamengen einzuführen.

Die Stätten der Glykuronsäurebildung und ihrer Paarung sind nicht genauer bekannt. Ashdown¹⁾, der einen Fall von reichlicher Glykuronsäure-Ausscheidung bei einem anscheinend völlig gesunden Menschen beschrieb, spricht auf Grund von Thierversuchen die Vermuthung aus, dass ein an die Nierenepithelien gebundener chemischer Vorgang zur Bildung der Glykuronsäure führe. Es dürfte vielleicht erlaubt sein, daran zu denken, ob nicht die Zuckerausscheidung nach Copaivaefuhr im Zusammenhang mit einem solchen in den Nieren sich abspielenden Vorgange stehen und renalen Ursprungs sein könnte. Es wäre dann der „Nierenreizung“, die ja bekanntlich nach **Copaivaefuhr sich nicht nur in der erhöhten Diurese, sondern mitunter ganz grob in dem Auftreten von Albuminurie und Haematurie kundgibt, eine Rolle zuzuschreiben.**²⁾ Mehr als eine blosser Vermuthung soll damit selbstverständlich nicht ausgesprochen werden.

Der eingangs besprochene Diabetesfall gewänne bedeutend an praktischem Interesse, wenn sich der Beweis hätte erbringen lassen, dass die Krankheitserscheinungen des Patienten erst nach den unsinnig hohen von ihm eingenommenen Copaivamengen aufgetreten wären. Leider giebt die Anamnese darüber keine genügende Auskunft. Aber nachdem die Versuche über alimentäre Glykosurie gezeigt haben, dass schon kleine Gaben des Mittels die Assimilationsgrenze für Zucker ungünstig zu beeinflussen ver-

mögen, liegt die Möglichkeit nahe, dass bei jenem zum Diabetes augenscheinlich disponirten Individuum (hereditäre Belastung, Fettsucht!) die intensive Copaivaefuhr auslösend auf den Diabetes gewirkt hat. Unser Fall böte somit eine weitgehende Analogie zu der citirten Beobachtung von Malmsten.

III. Aus dem Kgl. pr. Institut für Serumforschung und Serumprüfung in Steglitz.

Ueber Haemolysine.

Zweite Mittheilung

Von

Professor Dr. P. Ehrlich und Dr. J. Morgenroth.

In einem vorhergehenden Aufsatz¹⁾ haben wir die Beziehungen nachgewiesen, die zwischen den beiden Componenten eines specifischen, durch Immunisirung erzeugten Haemolysins, die wir als Immunkörper und Addiment bezeichneten und den der Auflösung unterliegenden rothen Blutkörperchen bestehen. Wir konnten zeigen, dass der Immunkörper von den Erythrocyten der zur Immunisirung benutzten Blutart, zu welchen er eine specifische Affinität besitzt, chemisch gebunden wird und weiterhin, dass das Addiment, jener labile, fermentartig wirkende Körper, der die Auflösung der Blutkörperchen bedingt, durch die Vermittlung des Immunkörpers an die Erythrocyten gekettet wird.

Damit war der Beweis gegeben, dass der Immunkörper, den Forderungen der Seitenkettentheorie entsprechend, eine haptophore Gruppe besitzt, die ihn zu den Erythrocyten des correspondirenden Blutes in Beziehung setzt, und dass derselbe ferner durch Vermittelung einer zweiten haptophoren Gruppe von geringerer Affinität eine Verbindung mit dem Addiment eingeht und so dessen Wirkung auf die Blutkörperchen überträgt.

Wir bedienten uns damals zu den Versuchen des gerade zur Verfügung stehenden Serums einer Ziege, die längere Zeit hindurch mit subcutanen Injectionen eines blutkörperchenhaltigen Hammelserums behandelt war. Dieser Vorbehandlung entsprechend übte das Serum der Ziege eine lösende Wirkung mässigen Grades auf Hammelblutkörperchen aus.

Zur Fortsetzung der Untersuchungen erschien es natürlich zweckmässig, sich eines Serums zu bedienen, das durch fortgesetzte Behandlung eines Thieres mit Vollblut gewonnen war und das demgemäss auch einen höheren Grad der Wirksamkeit besass. Zu diesem Zwecke hatten wir die Immunisirung zweier Böcke (am 12. November und am 24. Februar) in Angriff genommen, die mit steigenden Mengen defibrinirten Hammelblutes subcutan injicirt wurden. Wir erzielten bei beiden Thieren binnen kurzem ein stark wirkendes Serum und konnten zugleich die den allgemeinen Regeln der Immunisirung entsprechende Steigerung der Wirkung desselben fortgesetzt beobachten. Der Verlauf der Immunisirung bot im ganzen keine Besonderheiten, doch sei bemerkt, dass in den Tagen nach der Injection einer beträchtlichen Blutmenge (350 ccm) nicht das geringste Sinken im Wirkungswerth des Serums zu beobachten war, im Gegensatz zu den Erfahrungen bei Tetanus- und Diphtherieimmunisirung.

Was die allgemeine Ausführung der folgenden Versuche betrifft, so schliesst sich dieselbe der in dem ersten Aufsatz beschriebenen Versuchsanordnung an. Das Blut wurde stets in

1) Ashdown, Certain substances found in the urine etc. Brit. med. Journ. 1890, I.

2) Es sei bemerkt, dass keiner meiner Versuchsurine einen stärkeren Albumengehalt zeigte, als der bestehenden Gonorrhoe entsprach.

1) Diese Wochenschrift 1899, No. 1.

5proc. Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung verwandt.

Das Serum des ersten Bockes löste zur Zeit unserer Versuche in der Menge von 0,2—0,3 ccm 5 ccm der Hammelblutmischung vollständig auf, 0,03—0,07 brachten noch eine eben merkliche Lösung hervor. Von dem Serum des anderen Bockes genügten 0,15—0,2 ccm zur vollständigen Lösung.

Es sei hier erwähnt, dass das Serum von Bock II schon vor der Immunisirung eine äusserst schwach lösende Wirkung auf Hammelblut ausübte, so schwach nur, dass 4,0 ccm des Serums bei weitem noch nicht im Stande waren, 5 ccm 5proc. Hammelblut vollständig zu lösen und 1,2 eine eben merkliche Lösung hervorbrachten. Erwärmen auf 57° während einer halben Stunde hob diese Wirkung, ebenso wie die Lösung von Kaninchen- und Meerschweinchenblut, vollständig auf.¹⁾

Mit dem Serum der beiden Böcke konnten wir den grundlegenden Versuch anstellen. Die Bindung des Immunkörpers durch die Erythrocyten des Hammels bei 0° lässt sich ohne Weiteres demonstrieren, da bei dieser Temperatur und bei Anwendung entsprechender Serumengen eine Lösung nicht eintritt. Das Serum wirkte 24 Stunden auf das Hammelblut, das sorgfältig bei 0° gehalten wurde, ein. Die Blutkörperchen wurden dann durch Centrifugiren abgeschieden und zeigten nun das typische Verhalten, welches die Anwesenheit des gebundenen Immunkörpers beweist. Sie lösten sich nicht auf bei Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung, wohl aber dann, wenn Addiment in der Form von normalem Ziegen Serum zugefügt wurde. Im Gegensatz hierzu wurden bei Zimmertemperatur (ca. 20°) und schon nach einer Einwirkung von 8 Minuten beide Componenten von den rothen Blutkörperchen gebunden. In diesem Falle lösten sich die abgeschleuderten, durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung auch von Spuren anhaftenden Serums befreiten Blutkörperchen, in Kochsalzlösung wieder aufgeschwemmt bei Brutofentemperatur in ausgiebigem Maasse.

Es wiesen also die neu gewonnenen und stärker wirkenden Immunsera den Erythrocyten gegenüber Eigenschaften auf, die denen des früher beschriebenen Serums vollständig entsprachen. Dagegen zeigten die Sera nach anderer Richtung hin ein ganz abweichendes Verhalten.

Sowohl das von Bordet beschriebene, als auch das Serum unserer Ziege verloren, entsprechend dem von Buchner festgestellten allgemeinen Verhalten normaler haemolytischer Sera, ihre Wirkung durch halbstündiges Erwärmen auf 56°. Die Sera der beiden Böcke zeigten nach dreiviertelstündigem Erwärmen auf 56° nur eine kaum erkennbare Verminderung ihrer Wirkung auf Hammelblut, während zugleich ihr normales, recht erhebliches Lösungsvermögen für Meerschweinchen- und Kaninchenblut vollständig vernichtet war. Ja selbst dreistündiges Erwärmen auf 56° und eineinhalbstündiges Erwärmen des mit gleichen Theilen Wasser verdünnten Serums auf 65° vermochte nur die haemolytische Wirkung für Hammelblut abzuschwächen, keineswegs aber zu vernichten.

Da die vorausgegangenen Bindungsversuche keinen Zweifel

1) Wenn man das Serum einer grösseren Zahl normaler Ziegen untersucht, so findet man einige Sera, die diese schwach lösende Wirkung auf Hammelblut ausüben. So hatten die normalen Ziegen sera, die bei unseren ersten Versuchen zur Controle dienten und die, wie aus unseren früheren Angaben ersichtlich ist, in grosser Menge angewandt wurden, nicht die mindeste lösende, sondern höchstens eine wechselnde agglutinierende Wirkung. Auf die Variationen der Agglutinationsfähigkeit der Sera hatten wir in der ersten Mittheilung schon aufmerksam gemacht.

liessen, dass auch diese Haemolysine complexer Natur seien und ihre Wirkung auf der Anwesenheit eines specifischen Immunkörpers und eines Addiments beruhte, so erschien es klar, dass man hier einem Addiment ganz besonderer Art gegenüberstand, das sich von dem Addiment aller bisher bekannt gewordenen haemolytischen Sera durch eine ausserordentliche Resistenz gegenüber thermischen Einflüssen auszeichnete. Dieses Verhalten konnte nur auf einer eigenartigen Beschaffenheit des Addiments selbst beruhen und nicht etwa auf dem Vorhandensein einer weiteren Substanz im Serum, die die Resistenz desselben erhöhte, denn diese hätte ihre Wirkung ja auch den normal vorhandenen haemolytischen Stoffen gegenüber äussern müssen.

Für die vollständige Analyse der Phänomene war es aber dringend geboten, beide Componenten des complexen Serums, sowohl den Immunkörper als das Addiment, in freiem Zustande zu gewinnen. Für den Immunkörper ist bei dem gewöhnlichen specifischen Haemolysin diese Aufgabe dadurch sehr leicht zu lösen, dass das Addiment durch geringes Erwärmen zerstört wird. Da dieses Verfahren hier versagte, war es nothwendig, einen anderen Weg einzuschlagen. Ausgehend von der Erfahrung, dass die Addimente im Allgemeinen leichter zerstörbar sind, als die Immunkörper, konnten wir erwarten, durch stärker zerstörende Mittel chemischer Art zum Ziel zu gelangen. Nach einigen Vorversuchen haben wir zu diesem Zwecke folgendes Verfahren als bewährt gefunden. Versetzt man einen Theil unseres Serums mit dem zehnten Theil normaler Salzsäure, digerirt das Gemisch 30—45 Minuten bei 37° und neutralisirt dann, so hat durch diesen Eingriff das Serum seine lösende Wirkung auf Hammelblutkörperchen vollkommen eingebüsst. Dass aber in ihm der Immunkörper noch in fast unveränderter Menge vorhanden ist, lässt sich durch die Reaktivierung ohne Weiteres feststellen.

Die so gelungene Isolirung des Immunkörpers ermöglichte uns endlich, auch die Bindung desselben in freiem Zustand bei höherer Temperatur (20°—35°) nachzuweisen. Dieselbe geschieht, quantitativ, d. h. die rothen Blutkörperchen des Hammels sind im Stande, den gesammten Immunkörper derjenigen Serummenge zu binden, die in activem Zustand zu ihrer vollständigen Lösung gerade ausreicht. Man versetzt z. B. 5 ccm des 5proc. Blutgemisches mit 0,15 ccm des durch Salzsäure inactivirten Immunserums, nachdem man sich vorher versichert hat, dass diese Menge des activen Serums eben zur Lösung genügen würde. Nach halbstündigem Verweilen bei Zimmertemperatur centrifugirt man und versetzt das Sediment mit 2,0 ccm normalem Ziegen Serum, den Abguss mit neuem Hammelblut und gleichfalls 2,0 ccm normalem Ziegen Serum. Während das so behandelte Sediment vollständig gelöst wird, bleiben die dem Abguss zugesetzten Blutkörperchen trotz der Anwesenheit des Addiments intact. Aller Immunkörper ist also auf das Sediment übergegangen.

Das zu dieser Reaktivierung nöthige Addiment ist, wie aus den eben geschilderten Versuchen über die Bindung des Immunkörpers schon hervorging, im normalen Ziegen Serum enthalten. Diese Fähigkeit kommt allen von uns untersuchten Ziegen sera, wenn auch in wechselndem Maasse, zu. Da wir nun nachgewiesen hatten, dass das ursprüngliche, an den Immunkörper passende Addiment wärmebeständig war, musste sofort die Frage auftauchen, ob nicht in dem normalen Serum solche wärmebeständige Addimente nachweisbar sind. In der That konnten wir für eine Reihe von Ziegen diese Voraussetzung bestätigt finden. Erwärmt man solches Ziegen Serum $\frac{1}{3}$ — $\frac{2}{3}$ Stunden auf 56°, so ist das Serum, welches die ihm vorher eigene normale Lösungsfähigkeit für andere Blutkörperchen vollkommen eingebüsst hat, nichtsdestoweniger im Stande, den hier in

Frage kommenden Immunkörper in typischer Weise zu reactiviren¹⁾.

Bei einer Reihe von anderen Ziegen gelang dieser Versuch indessen nicht, indem durch das Erwärmen auf 56° das Serum seine activirende Fähigkeit vollständig einbüßte. Es war also in diesen Fällen ausschliesslich ein thermolabiles Addiment vorhanden, das in gleicher Weise wie das resistente Addiment auf den Immunkörper passte. Wir kommen daher zu dem Schluss, dass der bei der Immunisirung im Serum gebildete Immunkörper durch zwei verschiedene Arten von Addimenten die sich durch ihre Resistenz gegen thermische Einflüsse unterscheiden und die beide im normalen Ziegen Serum vorkommen, activirt werden kann.

Wahrscheinlich ist es, dass im Ziegen Serum diese beiden Addimente gleichzeitig vorhanden sein können, dass aber in manchen Fällen nur ein einziges und zwar das thermolabile vorhanden ist. Durch diese Auffassung würden sich die Unterschiede, die wir im Verhalten des Serums unserer immunisirten Thiere gegen thermische Einflüsse gefunden haben, sehr leicht erklären. Wir können annehmen, dass in beiden Fällen, derselbe Immunkörper vorhanden war, dass aber das Serum der zuerst immunisirten Ziege nur das thermolabile, das Serum der späteren Versuchsthiere auch das thermostabile Addiment enthalten habe. In dieser Beziehung ist es vielleicht von besonderem Interesse, dass wir in der That bei dem dritten Versuchsthiere (Bock II) vor Beginn der Immunisirung einen reichlichen Gehalt des Serums an hitzebeständigem Addiment nachgewiesen hatten.

Nachdem wir uns über den Wirkungsmodus der durch Immunisirung erzeugten haemolytischen Sera klar geworden waren, erschien es nur als eine nothwendige Consequenz, die Untersuchung auch auf die blutlösenden Eigenschaften der normalen Sera, die schon lange bekannt und von Buchner und seinen Schülern besonders eingehend erforscht sind, auszu dehnen.²⁾

Schon die Thatsache, dass die haemolytische Fähigkeit der normalen Sera durch mässiges Erwärmen zerstört wird, schien uns dafür zu sprechen, dass auch die normalen Haemolysine nicht einfacher Natur seien. Die experimentelle Behandlung der Frage bot allerdings recht erhebliche Schwierigkeiten.

Die ersten nothwendigen Versuche, um die complexe Zusammensetzung eines Lysins nachzuweisen, gelangen bei einer Reihe von Seris mit Leichtigkeit. Dieselben bestehen darin, dass man ein bestimmtes Serum, z. B. Ziegen Serum, welches gewisse Erythrocyten, wie die des Meerschweinchens, in der Wärme auflöst, in der Kälte (0°) auf die Blutkörperchen einwirken lässt. Man centrifugirt, versetzt die Flüssigkeit mit neuen Blutkörperchen und bestimmt dann in üblicher Weise die Lösungskraft. Es gelang so, leicht nachzuweisen, dass durch diese Be-

1) Da man durch Wärme sämtliche normale Lysine, die ja den Versuch sehr erheblich stören würden, ausschalten kann, war es möglich, die Frage zu entscheiden, ob ein derartiges wärmebeständiges Addiment auch im Serum anderer Species vorkäme. Wir konnten es in wechselnden Mengen im Serum des Hammels und des Kalbes, nicht aber im Hunde- und Kaninchenserum nachweisen.

2) Es ist sehr wahrscheinlich, dass auch gewisse Formen der Hämoglobinämie durch analoge Hämolysine entstehen. Für die Hämoglobinuria ex frigore hat Ehrlich schon vor langen Jahren den Nachweis erbracht, dass diese nicht auf eine Kälteüberempfindlichkeit der Erythrocyten zu beziehen ist, sondern auf die Anwesenheit specieller Giftstoffe, welche die Gewebe, insbesondere die Gefässe unter dem Einfluss der Kälte entstehen lassen. Vielleicht spielen solche Autolysine auch in der Genese schwerer Anämien eine erhebliche Rolle.

handlung das Serum einen gewissen Theil seiner Wirkungskraft einbüßt, dass aber diese durch Zusatz des gleichen, aber durch Erwärmen inactivirten Serums wieder regenerirt wird. Es sprechen diese Versuche nach unseren früheren Erfahrungen dafür, dass auch hier in dem Serum ein Analogon des Immunkörpers, ein mit zwei haptophoren Gruppen versehener Complex, der als Zwischenkörper bezeichnet werde, und ein Addiment, das wir im Folgenden mit dem allgemeineren Ausdruck Complement bezeichnen wollen, besteht, und dass von den Blutkörperchen vorwiegend der Zwischenkörper gebunden worden ist. Es erklärt sich so die Abschwächung der Wirkung durch den Defect des Zwischenkörpers, der durch Zusatz von neuen Mengen desselben — in Form von inactivem Serum — wieder ausgeglichen wird.

Wir haben derartige Versuche mit positivem Erfolg ausgeführt bei den Combinationen: Ziegen Serum, Hammelserum, Kalbeserum und Hundeserum mit Meerschweinchenblut.

So einfach in diesen Versuchen die Constatirung des Zwischenkörperdefects ist, auf so grosse Schwierigkeiten stösst es, die Gegenprobe anzustellen, die darin besteht, dass man in dem Blutkörperchensediment den von diesem fixirten Zwischenkörper nachweist. Denn man bedarf zu diesem Behufe eines vollkommen isolirten Complements. Die Beschaffung desselben ist für das specifische, aus dem Serum unserer immunisirten Ziegen durch Erwärmen hergestellte Zwischenglied, eine sehr leichte, indem dasselbe in jedem normalen Ziegen Serum enthalten und auch aus dem Immun Serum selbst durch elective Absorption leicht herstellbar ist.

Es lohnt sich wohl, die Bedingungen der Abtrennung des Zwischenkörpers durch Absorption einer analytischen Betrachtung zu unterziehen. Die vollständige Trennung von Zwischenkörper und Complement wird dann eintreten, wenn die Avidität der mit den Blutkörperchen sich verbindenden haptophoren Gruppe zu diesen unter den gewählten Versuchsbedingungen eine wesentlich höhere ist, als die zwischen der zweiten haptophoren Gruppe des Zwischenkörpers und dem ihr angepassten Complement. Ein Maass der relativen Avidität finden wir in der Temperatur, bei welcher die Vereinigung erfolgt. In dem Fall des beschriebenen durch Immunisirung erzeugten Lysins tritt die Vereinigung der Blutkörperchen und der entsprechenden haptophoren Gruppe des Immunkörpers bei 0° ein, die Vereinigung der zweiten haptophoren Gruppe mit dem Complement erst bei höherer Temperatur. Bei einer Temperatur von 0° enthält also die Flüssigkeit Immunkörper und Complement in ungebundenem Zustande, und ist daher die Möglichkeit gegeben, aus einer solchen Mischung durch die rothen Blutkörperchen den Immunkörper quantitativ zu entreissen. Das ist natürlich der günstigste Fall. Der entgegengesetzte Fall wird darin bestehen, dass die Avidität beider Gruppen genau die gleiche ist. In diesem Falle wird von den Blutkörperchen stets die Verbindung Zwischenkörper + Addiment gebunden, derart, dass die Flüssigkeit an beiden Componenten gleichmässig verarmt. Zwischen diesen beiden Extremen können natürlich alle Uebergänge bestehen, die die Aviditätsunterschiede beider Gruppen aufweisen können. Der häufigste Fall scheint uns der zu sein, dass die Avidität der haemotropen Gruppe des Zwischenkörpers nicht sehr erheblich stärker ist, als der auf das Addiment reagirenden. In diesem Falle gelingt es nicht, durch Behandlung mit Erythrocyten freies Addiment darzustellen, sondern es bleibt im Serum stets eine gewisse Menge Zwischenkörper zurück, sodass die Lösungskraft nicht vollständig verloren geht. Derartige Sera, die an und für sich noch Lösungskraft besitzen, können natürlich zu reinen Activirungsversuchen nicht verwandt werden.

Dem zuletzt geschilderten Verhalten sind wir nun bei nor-

malen Blutseris ausserordentlich häufig begegnet, und dieser Umstand erschwerte die Untersuchung des Complements in so hohem Maasse. Wir haben uns deshalb die Frage vorlegen müssen, ob wir nicht auf einem anderen Wege diese Schwierigkeit beiseitigen könnten.

Für analytische Versuche brauchen wir, wie erwähnt, die beiden Componenten in isolirter Form 1. den Zwischenkörper, der jederzeit durch Erwärmen aus dem normalen activen Serum gewonnen werden kann, 2. das Complement, dessen Darstellung aus dem activen Serum durch Bindung des Zwischenkörpers an Erythrocyten aus den oben geschilderten Gründen nicht vollständig gelingt.

Wir gingen nun von der Ansicht aus, dass in jedem Blutserum eine ganze Reihe von verschiedenen fermentartigen Körpern vorhanden sein könnte, unter denen auch einige geeignet wären, die Rolle des Complements zu übernehmen. Natürlich war a priori klar, dass ein solches Zusammentreffen nur ein glücklicher Zufall sein könnte, und dass man nur durch die Untersuchung einer grossen Reihe von Einzelfällen einer günstigen Combination begegnen könne. In der That haben wir nach ziemlich langem Suchen derartige Fälle gefunden.

Hundeserum löst, wie bekannt, Meerschweinchenblut mit grosser Energie. Erwärmt man das Hundeserum auf 57°, so bösst es der Regel entsprechend seine Lösungskraft ein. Fügt man aber dem 5proc. Meerschweinchenblut derartig inactivirtes Hundeserum und ausserdem eine reichliche Menge normalen Meerschweinchenserums zu, ca. 2,0 ccm auf 5 ccm des 5proc. Blutes, so tritt nun vollständige Lösung ein. Es kann diese Thatsache nur so erklärt werden, dass in dem Meerschweinchenserum ein Complement vorhanden ist, das zufällig auf die eine der haptophoren Gruppen des vom Hunde stammenden Zwischenkörpers passt und dieses daher activirt. Es ist dieser Versuch um so beweisender, als hier die Lösung durch Zusatz des Serums derselben Species, von der auch das Blut stammt, vermittelt wird, das von allen möglichen Zusätzen derjenige ist, welcher für die Blutkörperchen das physiologische und sie daher am besten conservirende Medium darstellt¹⁾.

Durch diese Versuche halten wir es für sicher erwiesen, dass die hämolytische Wirkung, die das Serum, sei es nach gewissen immunisirenden Eingriffen, sei es auch normaler Weise zeigt, in den von uns untersuchten Fällen auf der combinirten Wirkung zweier Körper beruht.

Jetzt erst, nachdem wir sowohl den Zwischenkörper des Meerschweinchenblut lösenden Hämolysins des Hundeserums, als auch ein diesen reactivirendes Complement in Händen hatten konnten wir zu dem letzten beweisenden Versuch übergehen.

Zwei Reagensröhrchen mit 5 ccm 5proc. Meerschweinchenblut wurden mit je 0,2 ccm inactiven Hundeserums versetzt, nachdem durch eine Versuchsreihe festgestellt war, dass 0,2 ccm Hundeserum vor dem Erwärmen die angegebene Menge Meer-

1) Es gelang ferner, noch andere Combinationen zu finden, bei denen ein analoges Verhalten in mehr oder weniger ausgesprochenem Maasse nachzuweisen war. Wir erwähnen von diesen: 1. Meerschweinchenblut — inactives Kalbserum — Meerschweinchenserum, 2. Hammelblut — inactives Kaninchenserum — Hammelserum, 3. Ziegenblut — inactives Kaninchenserum — Ziegenserum, 4. Meerschweinchenblut — Hammelserum — Meerschweinchenserum. Die Thatsache, dass ein andersartiger, d. h. von einer anderen Thierspecies stammender Zwischenkörper die passende Complementary nicht nur in dem eigenen, sondern in dem Serum fremder Species finden kann, ist für die Frage, ob es gelingt, durch Pasteurisiren der Heilsera dieselben für den Menschen vollkommen ungeschädlich zu machen, von grosser Bedeutung. Vielleicht dürfte es sich auf diese Weise erklären, dass die von Spronck eingeführte Erwärmung des Diphtherieserums nicht das gehalten hat, was man a priori von ihr erwarten durfte.

schweinchenblut gerade complet löste. Die Gemische blieben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 20° stehen und wurden dann centrifugirt. Die so erhaltenen Sedimente wurden, um etwa anhaftendes Serum zu entfernen, noch einmal mit Kochsalz ausgewaschen und wiederum abcentrifugirt. Fügt man nun dem einen Sediment physiologische Kochsalzlösung, dem anderen Sediment 1,5 cm Meerschweinchenserum zu, so erfolgte in der letzteren Probe complete Lösung, während die erstere ungelöst blieb. Es ist hierdurch bewiesen, dass der Zwischenkörper von den rothen Blutkörperchen quantitativ gebunden worden ist. Die durch Centrifugiren gewonnene Flüssigkeit löste auch bei reichlichem Zusatz von Meerschweinchenserum frisch zugesetztes Meerschweinchenblut nicht auf. Dieselbe enthielt also keinen freien, aus dem zugesetzten Hundeserum stammenden Zwischenkörper.

Aus diesen Untersuchungen mussten wir die Ueberzeugung gewinnen, dass bei der Hämolyse im allgemeinen nicht ein einfacher Körper, sondern zwei distincte, sich mit einander verbindende Substanzen in Action treten. Eine allgemeine Methode, dies für jeden Einzelfall nachzuweisen, besitzen wir zur Zeit nicht. Die Lösung des Problems ist vorläufig nur unter den oben präcisirten günstigen Bedingungen möglich, d. h. wenn die beiden haptophoren Gruppen des Zwischenkörpers in ihrer Avidität sehr verschieden sind, oder wenn es gelingt durch eine Combination, deren Auffindung vom Zufall abhängt, ein activirendes Complement zu erlangen. Wo diese Bedingungen nicht zutreffen, ist die Lösung der Aufgabe vorläufig unmöglich. Dies ist z. B. der Fall bei dem Ichthyotoxin, dem blutlösenden Princip des Aalserums. Es gelingt zwar ausserordentlich leicht, durch geringes Erwärmen — 15 Minuten auf 54° — das Aalserum vollkommen inactiv zu machen, dagegen ist uns die Reactivirung nicht gelungen, da wir uns das hierfür benöthigte Complement nicht beschaffen konnten.

Es ist natürlich, dass wir uns angesichts der so mannigfaltigen Bestandtheile des normalen Blutserums erst im Beginn der tiefer eindringenden Erkenntniss befinden und dass speciell für die von uns besprochenen Substanzen sich eine grosse Reihe von Fragen eröffnet, deren Aufklärung von Bedeutung ist.

Die erste Frage, die hier in Betracht kommt, ist die nach der Multiplicität der in einem bestimmten normalen Serum enthaltenen Hämolysine. Es ist nach unseren Beobachtungen sehr wahrscheinlich, dass die Fähigkeit einer Serumart, die Blutkörperchen verschiedener Species zu lösen, nicht auf die Action eines einzigen, sondern mehrerer Lysine zurückzuführen ist. Wenn also z. B. das normale Hundeserum die Blutkörperchen des Meerschweinchens, des Kaninchens, des Hundes etc. löst, so ist anzunehmen, dass hierbei eine Vielheit von Zwischenkörpern und den entsprechenden Complementen in Wirkung tritt. Von den Wegen, der Lösung dieser Aufgabe näher zu treten, seien hier nur folgende erwähnt:

1. Die isolirte Zerstörung einzelner Lysine durch thermische und chemische Einflüsse. 2. Die Bindung der einzelnen Lysine durch entsprechende Blutarten und die dadurch mögliche elective Entfernung derselben. Dieses Verfahren, auf das wir in einem späteren Aufsätze zurückkommen werden, bietet bei den rothen Blutkörperchen manche technischen Schwierigkeiten. Dagegen gelingt es bei einer anderen Art specifisch wirkender Substanzen des Serums, den Agglutininen, auf diesem Wege relativ leicht, zum Ziele zu gelangen, wie dies aus den Bordet'schen Versuchen¹⁾ hervorgeht, die im Anschluss an unsere ersten Untersuchungen und mit der von uns angewandten Methode ausgeführt sind. 3. Eine Trennung der Lysine scheint ferner möglich auf dem Wege der Immunisirung, indem man hierdurch

1) Inst. Pasteur, März 1899.

im Stande ist, Antikörper gegen die normalen Lysine zu gewinnen. So haben schon Kossel, Camus und Gley durch entsprechende Behandlung von Thieren mit dem äusserst stark globuliciden Aalserum ein die Wirkung des Aalserums neutralisirendes, also antilysinhaltiges Serum gewonnen. Offenbar handelt es sich hier um einen reactiv gebildeten Antikörper, der an der hämotropen Gruppe des Zwischenkörpers eingreift und denselben so von den Erythrocyten ablenkt. Unsere Versuche, von dieser Voraussetzung ausgehend, einen Antikörper für einzelne der Lysine isolirt zu erzeugen, haben jedoch vorläufig noch zu keinem Resultate geführt. So schützte zwar Serum von Kaninchen, die mit Ziegen Serum vorbehandelt waren, Kaninchenerythrocyten gegen die Auflösung durch Ziegen Serum. Aber es schützte auch zugleich das Blut des Meerschweinchens und der Ratte gegen die gleiche Schädlichkeit, ja es verhinderte sogar die Hämolysewirkung des Hundeserums gegenüber Kaninchenblut. Aus dieser Thatsache müssen wir zunächst schliessen, dass durch Immunisirung mit einem Serum eine ganze Reihe verschiedener Antily sine erzeugt werden. Offenbar ist dies so zu erklären, dass im Serum eine grosse Zahl verschiedener Complexe mit haptophoren Gruppen vorhanden ist, von denen viele — gleichgültig ob sie toxisch sind oder nicht — entsprechende Antikörper zu erzeugen im Stande sind.

Mit den Anschauungen, die Ehrlich über die Entstehung der Antikörper ausgesprochen hat, lässt sich die überraschende Vielheit der im Blut vorhandenen, mit haptophoren Gruppen versehenen Substanzen (Hämolepine, Agglutinen, Fermenten, Antifermenten auf's leichteste in Einklang bringen. Nach Ehrlich's Auffassung entsprechen alle diese Stoffe abgestossenen und in den Kreislauf gelangten Seitenketten des Protoplasmas. Diese Seitenketten des Protoplasmas sind, wie Ehrlich schon im Jahre 1885¹⁾ aussprach, physiologisch dafür bestimmt, assimilierungsfähige Complexe, die zur Ernährung des Protoplasmas dienen sollen, an dasselbe zu fesseln. Ein grosser Theil dieser Seitenketten wird unter geeigneten Bedingungen abgestossen werden können und so im Blute auftauchen.

Bei der grossen Zahl der Organe und bei dem mannigfaltigen Chemismus ihres Protoplasmas darf es uns daher nicht Wunder nehmen, dass das Blut, gleichsam als Repräsentant aller Gewebe, von einer Unzahl derartiger Seitenketten erfüllt sein kann. Bei dem ständig wechselnden Chemismus des Organismus, auf den eine grosse Reihe von Factoren — Rasse, Geschlecht, Ernährung, Arbeitsleistung, Secretionen, Verhältnisse des umgebenden Mediums — Einfluss haben, ist es daher nicht wunderbar, dass das Serum in diesen seinen Qualitäten einem beständigen Wechsel unterliegt. Schon aus den hier gegebenen Beispielen vom Verhalten des Serums normaler Thiere treten solche Variationen hervor. Ziegen Serum besitzt bald eine gering lösende Wirkung auf Hammelblut, bald fehlt diese vollständig. Hundeserum löst in dem einen Fall die rothen Blutkörperchen der Katze stark auf, in einem anderen Falle überhaupt nicht. Eine ganz besondere Variabilität zeigt auch die Wirkung des Kaninchenserums auf Meerschweinchenblut.

Ein sehr interessantes Beispiel dieser wechselnden Wirkung bietet das Muränen Serum, welches bekanntlich im Allgemeinen für Versuchsthiere und für rothe Blutkörperchen in vitro eine ausserordentlich starke Giftwirkung besitzt. Herr Dr. Schönlein in Neapel, der leider vor Kurzem zu früh der Wissenschaft entrissen wurde, hat die Güte gehabt, für uns derartige Versuche auszuführen, aus denen hervorging, dass bei einem gar nicht unerheblichen Theil der Muränen das Serum keine toxische Wir-

kung besitzt und in grossen Mengen — 2 cem und mehr — ohne jeden Nachtheil Kaninchen intravenös injicirt werden kann.

Es ist klar, dass diese so weitgehende Variabilität die Untersuchungen der Sera ausserordentlich erschwert. So haben wir z. B. bei der Wiederholung des bekannten, von Buchner beschriebenen Versuches, dass eine in bestimmtem Verhältniss hergestellte Mischung von Hunde- und Kaninchenserum im Laufe von 24 Stunden ihre hämolytischen Eigenschaften für Meerschweinchen verliert, in 3 Fällen den Befund Buchner's ohne Weiteres voll bestätigen können, während in 5 anderen Fällen der Effect mehr oder weniger ausblieb.

So glauben wir denn, dass alle diese Untersuchungen die Anschauung, die wir vom Wesen der complexen Gifte der Blutsera ausgesprochen haben, auf's beste stützen. v. Dungern (M. m. W. 1899, No. 14) hat sich auf Grund eigener neuer Versuche dieser unserer Anschauung angeschlossen. Wir können uns daher damit begnügen, eine andere Auffassung, wie sie jüngst von Bordet¹⁾ geäussert worden ist, nur kurz zu berühren. Bordet hat die von uns gemachten Angaben über die Fixation des specifischen Immunkörpers durch die entsprechenden Erythrocyten bestätigt. Er hat auch zugegeben, dass die Fixation mit dem Lösungsvorgang selbst in Zusammenhang steht, glaubt aber über die Art des Zusammenhangs eine besondere Hypothese aufstellen zu müssen.

„On pourrait rapprocher, si une comparaison un peu grossière était permise, la modification apportée par la substance sensibilisatrice (unser „Immunkörper“) sur le globule, de celle qui consisterait à changer la structure d'une serrure, de façon à y permettre l'introduction facile d'une ou de plusieurs clefs qui n'y entraient pas auparavant ou n'y pénétraient qu'avec difficulté. Deux clefs suffisamment semblables entreraient dès lors indifféremment.“

Man könnte sich also den Wirkungsmechanismus der beiden Substanzen, wie ihn Bordet auffasst, an dem Beispiel eines Sicherheitsschlusses veranschaulichen, zu dessen Eröffnung zwei Schlüssel benöthigt werden, von denen der erste lediglich den Zugang zum Hauptschloss wegsam macht.

Dieser grob mechanischen Auffassung steht zunächst das Bedenken entgegen, dass die Schlüssel nicht aus eigenem Antrieb in die Schlösser hineinfliegen, sondern dass dazu gewisse Kräfte nöthig sind. Unsere Theorie giebt hierfür eine sehr einfache Erklärung; die treibende Kraft ist die chemische Verwandtschaft der auf einander eingestellten bindenden Gruppen. Gerade unsere gesammte Versuchsanordnung lief ja darauf hinaus, die Frage zu entscheiden, ob die beiden Substanzen gemeinschaftlich an einer Stelle oder getrennt an zwei verschiedenen Orten an den Blutkörperchen angriffen. Maassgebend war für unsere Entscheidung der Nachweis, dass das Addiment in keiner Weise von den rothen Blutkörperchen fixirt wird. Hätte Bordet sich nicht damit begnügt, nur einen einzigen unserer Versuche auszuführen, sondern hätte er die ganze Reihe der von uns beschriebenen Versuche nachgemacht, so hätte ihm das Unzutreffende seiner Anschauung klar werden müssen.

Wenn man, wie dies in unserem ersten Aufsatz beschrieben ist, actives Immunserum bei 0° mit Blutkörperchen behandelt, wobei der Immunkörper fixirt wird, so wäre ja das Schloss wegsam gemacht und es wären so nach Bordet die Bedingungen für das Eindringen des Addiments (Bordet's Alexin) in die Blutkörperchen gegeben. Es tritt aber unter diesen Umständen thatsächlich das Addiment nicht an die rothen Blutkörperchen heran. Auch die neuen, in vorliegendem Aufsatz beschriebenen Thatsachen harmoniren auf's beste mit unserer Theorie.

1) Ehrlich, Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin 1885.

1) Ann. Inst. Past., April 1899.

Wird aber dieser Wirkungsmodus der Lysine acceptirt, so wird man nicht umhin können, die gleiche Anschauung auf das lebende Protoplasma zu übertragen und in ihm Seitenketten besonderer Art anzunehmen, die für die Ergreifung hochcomplicirter Stoffe bestimmt sind, und welche ausser dem fangenden Complex noch einen anderen Complex enthalten, der durch Fixation geeigneter Fermente Verdauungswirkung ausüben kann.

IV. Ueber Tanocol.

Nebst Bemerkungen über Behandlung gewisser Formen von Dünndarmkatarrh.

Von

Prof. Dr. Rosenheim.

(Vortrag, gehalten in der Berliner med. Gesellschaft am 23. März 1899.)

Vor etwa einem Jahre wurde mir von der Actien-Gesellschaft für Anilin-Fabrikation ein durch Herrn Dr. Altschul dargestelltes neues Tanninpräparat „Tanocol“ zur Prüfung übergeben.

Dieses Präparat ist Leimtannat, welches nach besonderem Verfahren in sehr reiner Form als ein geschmack- und geruchloses, nur wenig gefärbtes Pulver gewonnen wird. Es ist seit Langem bekannt, dass Leim und Tannin sich gegenseitig ausfällen und macht man von dieser Beobachtung zum gegenseitigen Nachweis dieser Stoffe oft Gebrauch; auf der Fällung der leimgebenden Bestandtheile der Haut durch Gerbsäuren beruht auch der Gerbeprocess. Dass aber dem Tanninleim therapeutisch werthvolle Eigenschaften zukommen, wurde bisher noch nicht vermuthet und hat man denselben deshalb auch noch nicht in einer für pharmaceutische Zwecke genügenden Reinheit dargestellt. Es hat sich nun gezeigt, dass das Tanocol, welches etwa gleiche Theile Tannin und Gelatine in salzartiger Bindung enthält, sich durch die Eigenschaft auszeichnet, von verdünnten sauren Flüssigkeiten, z. B. vom Magensaft, sehr wenig angegriffen zu werden, während es von alkalischen Flüssigkeiten, z. B. vom Darmsaft, langsam, was ja auch praktisch wichtig ist, unter Abspaltung von Tannin gelöst wird. Das Präparat erscheint daher geeignet zur Anwendung als im Magen unlösliches Darmadstringens nach Art des Tannalbin (Tannineiweiss). Vor letzterem hat es vor Allem einen erheblich billigeren (25—30pCt.) Preis voraus und zeigt nach Versuchen von Dr. Altschul und Dr. Flato: ferner noch folgende Vorzüge:

1. Die Magensaftr Resistenz des Tanocol ist eine ganz bedeutend höhere als die des Tannalbin. Während von diesem nach Tambach (Pharm. Centralhalle 1897, 827) nur etwa 50pCt. beim Behandeln mit künstlichem Magensaft (2gr mit 100gr Wasser, 0,25gr Pepsin, 20 Tropfen 25proc. Salzsäure, 3 Stunden bei 40° C. ohne umzurühren, digerirt) ungelöst bleiben, manche Handelsproducte jedoch noch geringere Resistenz zeigen, wird bei gleicher Prüfung von Tanocol nur etwa 10—20pCt. gelöst. Das Filtrat der Magensaftdigestion zeigt dementsprechend beim Tannalbin eine sehr viel stärkere Blaufärbung mit Eisenchlorid.

2. Das Tanocol zeigt eine weit grössere Constanz seiner für die therapeutische Verwendung wesentlichen Eigenschaften. Während nämlich das Tannineiweiss nach Gottlieb an sich im Magensaft löslich ist und erst durch Erhitzen auf höhere Temperatur (über 100°) eine gewisse Resistenz gegen Magenverdauung erhält, zeigt der Tanninleim, in der im Tanocol vorliegenden Form, bereits in lufttrockenem Zu-

stande fast dieselbe grosse Beständigkeit gegen Pepsinsalzsäure wie nach dem Trocknen bei 100° oder bei höherer Temperatur. Die Tannineiweisspräparate werden daher, je nach Grad und Dauer des secundären Erhitzungsprocesses, ganz verschiedene Löslichkeit im Magensaft zeigen (so war das zuerst fabricirte Tannalbin weit schwerer löslich als das jetzige Handelspräparat (vergl. Pharm. Centralhalle 1897, 828). Es fehlt also dem Tannalbin die erforderliche Constanz der Eigenschaften. Beim Tanocol dagegen kann die Resistenz gegen Magensaft nicht willkürlich verändert werden, das Präparat muss daher stets in gleicher Weise wirksam sein.

3. Durch das Fortfallen der Erhitzung auf höhere Temperatur ist schliesslich das Tanocol frei von Producten partieller Zersetzung und daher ein weit reineres Präparat als Tannalbin. Das Filtrat der Digestion mit Magensaft ist dementsprechend beim Tanocol farblos, beim Tannalbin erscheint dasselbe bräunlich gefärbt.

Das Tanocol zeichnet sich also gegenüber dem Tannalbin aus durch billigeren Preis, grössere Reinheit, höhere Magensaftr Resistenz und die Constanz seiner pharmakologischen Eigenschaften.

Nachdem wir uns dann überzeugt hatten, dass Tanocol in ganz grossen Dosen ohne Schädigung vertragen wurde, haben wir es bei gesunden und kranken Menschen verwendet.

Es zeigte sich hierbei:

1. Dass es keinerlei subjective Beschwerden im Magen hervorruft, auch nicht bei Patienten mit Gastritis, Carcinom, Hyperaesthesia nervosa, und dass es objectiv nachweisbar die Secretionsverhältnisse im Magen oder die Motilität des Organs nicht beeinflusst.

2. Es bewährte sich in Dosen von 1gr mehrmals täglich für Erwachsene und in entsprechend kleinerer Dosis für Kinder als ein zuverlässiges Darmadstringens, dessen Leistungsfähigkeit der der besten zur Zeit vorhandenen Tanninpräparate bei der Bekämpfung verschiedenster Arten von Darmreizungszuständen mit Diarrhoeen gleichwerthig war, und das als Pulver verabreicht, stets gern genommen und gut vertragen wurde.

Ich möchte nun noch einige Worte über die Indicationen für den Gebrauch der Tanninpräparate im Allgemeinen hinzufügen. Wohl durchgängig besteht die Auffassung, dass sie dort rein symptomatisch zu verwenden sind, wo die Erscheinung der Diarrhoe in dem Krankheitsbilde der Darmaffectionen hervortritt. Dabei wird es als ziemlich gleichgültig angesehen, auf welcher Basis das in Rede stehende Symptom zu Stande kommt. Nur dass Diarrhoeen rein nervösen Ursprunges für diese Behandlungsmethode nicht gerade in Betracht kommen, wird gemeinhin anerkannt. Im Uebrigen aber wird bei allen Arten von Darmkrankungen, bei entzündlichen und geschwürigen Processen ohne Unterschied diese Therapie versucht. Die Erfahrung hat nun unzweifelhaft gelehrt, dass geschwürige Prozesse tuberculösen Ursprunges und meist auch solche dysenterischen Charakters, wenn sie, wie so häufig, hartnäckige Durchfälle bedingen, in Bezug auf diese Erscheinung seltener eine erhebliche, wohl nie eine anhaltende Besserung erfahren — und dann wohl auch nur durch Beeinflussung eines begleitenden Katarrh. Und noch geringer sind die Erfolge, die wir bei Amyloiderkrankung des Darmes durch die Verabreichung der Tanninpräparate erzielen. Und wenn wir uns die Art der Wirkung des Tannins vergegenwärtigen, so ist der Misserfolg verständlich. Hartnäckige Diarrhoeen bei geschwürigen Processen der oben bezeichneten Art kommen wohl vornehmlich dadurch zu Stande, dass von den lädirten Stellen des Darmes aus durch Reizung starke Impulse für die Peristaltik ausgelöst werden. In gewissem Sinne handelt es sich also hier auch um mehr nervöse