II. Aus der medizinischen Universitätsklinik in Genua.
(Vorstand: Prof. Dr. E. Maragliano.)

Ueber hämolytisches Blutplasma.

Von Privatdozent Dr. G. Ascoli.

Die gewaltige Entwicklung der Bakteriologie in den letzten Jahrzehnten hat mit der fortschreitenden Erkenntnis der bakteriellen Toxine und Proteine die Aufmerksamkeit auf die hohe biologische Wirksamkeit derartiger eiweissartiger oder den Eiweisskörpern nahestehender Verbindungen gelenkt.

So brach sich immer allgemeiner und bewusster die Auffassung der differenten Eigenschaften der anscheinend einander so nahestehenden organisirten und unorganisirten Eiweisssubstanzen Bahn. Diese differenten Eigenschaften stellen die biologisch-chemische Grundlage der bald stürmisch unter dem Bilde schwerer Vergiftungen verlaufenden,

¹⁾ Das soll natürlich nicht heissen ungiftigeren, denn die Peptone sind giftiger als die körperfremden Eiweissstoffe, wenn sie mit Umgehung der Darmwand aufgenommen werden.

²⁾ Ascoli, Münchener medizinische Wochenschrift 1902, No. 16.

bald unauffällig, aber unter Bildung spezifischer neuer Substanzen in den Körpersäften sich vollziehenden vitalen Reaktionen dar, die bei Einverleibung von niederen Organismen oder ihren Produkten, bzw. von bestimmten Zellen oder Zellcomplexen, Gewebeelementen und Säften bei höheren Organismen stattfinden, und durch jene Erkenntnis werden diese Reaktionen unserem Verständniss nähergerückt.

Die von der Constitution der Zellen und Zellsäfte höherer Organismen jedenfalls wesentlich differenten eiweissartigen (oder den Eiweisskörpern sehr nahestehenden) bakteriellen Toxine lassen uns eine Einwirkung derselben durch Störung des vitalen Chemismus durchaus verständlich erscheinen, sei es, dass die Folge derselben in Form von Vergiftungserscheinungen zu Tage tritt, sei es, dass bei geringerer Toxindosis seine Abweichung von der Norm durch die Bildung von Stoffen (Antitoxinen) sich äussert, die dem normalen Organismus mehr oder weniger fremd sind.

Bei der Einverleibung von Toxinen äussert sich nun die Aenderung des vitalen Chemismus unter bestimmten Bedingungen eben in der Bildung von Antitoxinen, von Substanzen, die unter gegebenen Umständen und bei entsprechender Dosis befähigt sind, die Wirksamkeit jener Toxine aufzuheben, zu neutralisieren.

Diese an der Toxinwirkung gewonnene und als Reaktion des Organismus auf differente und stark wirksame Substanzen unserem Verständniss nicht fern stehende Erfahrung gilt nun und ist in ähnlicher Weise auch mehrfach [Labferment, Fibrinferment¹⁾] für die den Toxinen nahestehenden Fermente nachgewiesen: sodass durch vitale Reaktion, wie ein Diphterieantitoxin, so auch ein gegen Lab wirksames Antilab, ein gegen Fibrinferment wirksames anticoagulirendes Serum gewonnen werden kann.

Die ziemlich auffallenden differenten Eigenschaften der Enzyme, ihre hohe biologische Aktivität lassen uns nun diese ihre Analogie mit den Toxinen kaum überraschend erscheinen, wenn ihnen auch eines der auffälligsten Merkmale der Toxine, die hohe Giftwirkung, abgeht. Eben damit aber ist weiter der Uebergang zu der analogen Reaktion des Organismus gegenüber anderen Zellderivaten und selbst Zellen gegeben, denen wir chemisch und biologisch ziemlich indifferente Eigenschaften zuzuschreiben geneigt wären. Denn nach obigen Erfahrungen kommt es ja auf eine irgendwie erhebliche spezifische Giftwirkung, auf eine direkt in Betracht kommenden Körpersäfte und Zellen beeinflussende Aktivität der einverleibten Substanz (wie z. B. beim Lab) gar nicht an: es kommt, soweit man vorläufig die Verhältnisse zu übersehen vermag, im wesentlichen die eiweissartige Natur und eine gewisse Abweichung der chemischen Constitution derselben gegenüber dem normalen Eiweissbestande des behandelten Organismus in Betracht.

Im Lichte dieser erweiterten Anschauung erscheinen die weiteren bereits gewonnenen Erfahrungen betreffs der möglichen Erzeugung spezifisch kasein-, globulinfällender, spezifisch blutkörperchenlösender, spermotoxischer Sera²⁾ weniger überraschend. Es handelt sich hierbei immer um Einzelfälle, in denen ein scheinbar ziemlich allgemeines biologisches Gesetz in Erscheinung tritt, vermöge dessen höhere Organismen unter bestimmten, uns nicht vollkommen klaren Bedingungen befähigt sind, auf Einführung ihnen normal körperfremder Eiweiss-complexe durch Aenderung ihres normalen Stoffwechsels zu reagieren; dabei werden in ihren Körpersäften neue Reaktionsbedingungen geschaffen, die jenen Substanzen gegenüber in streng oder relativ spezifischen Reaktionen (Wirkungshemmung, Fällung, Auflösung) sich äussern.³⁾

Ich habe auf diesen Zusammenhang der verschiedenen „Immunitätsreaktionen“ hingewiesen, weil seine Erkenntnis uns naturgemäss dazu führt, die in Betracht kommenden Reaktionen in Bezug auf ihre Genese und Erscheinungsform unter einem einheitlichen Gesichtspunkte zu betrachten, und weil, soweit nicht direkt entgegenstehende Erfahrungen die Einzelfälle auseinanderhalten, wir dazu geführt werden, ihren Mechanismus als einen im wesentlichen zusammenfallenden anzunehmen, der uns berechtigt, aus den an einer Reihe nachweisbaren Erscheinungen Rückschlüsse auf die Modalität der anderen zu ziehen.

¹⁾ Morgenroth, Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde Bd. XXVI. — Bordet und Gengou, Ann. Inst. Pasteur 1901.

²⁾ Bordet, Ann. Inst. Pasteur 1899. — Myers, Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde 1900, Bd. XXVIII. — Bordet, Ann. Inst. Pasteur Bd. XII und XIII. — Belfanti und Carbone, Acc. medica di Torino 1895. — Landsteiner, Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde Bd. XXV.

³⁾ In ähnlicher Weise kommt es auch häufig bei Bakterien (die ihrerseits in obigen Fällen das Agens darstellen können) zu einer Aenderung, einer Adaptation des Stoffwechsels an gegebene Nährsubstrate, zu einer Steigerung der Virulenz bei wiederholter Passage durch den Thierkörper. Andererseits mag daran erinnert werden, dass eine spezifische Reaktivität in obigem Sinne natürlich auch unabhängig von immunisatorischer Vorbereitung der Organismen vorkommt, was auch aprioristisch durchaus verständlich ist: den betreffenden Reaktionen haftet ja nur insofern etwas Eigenthümliches an, als wir sie in vielen Fällen biologisch experimentell hervorrufen, bzw. steigern können.

Es ist aber von wesentlicher Bedeutung, von diesem präzisen Standpunkte auszugehen, weil eben in Betreff der Modalität der die verschiedenen Immunitätsreaktionen beherrschenden Faktoren noch tiefgehende Meinungsverschiedenheiten von autoritativer Seite gestützt und verfochten erscheinen und eine Klärung derselben nur auf Grund von Einzelerfahrungen erwartet werden kann, die an experimentell günstig liegenden Fällen gewonnen werden.

Diese Meinungsverschiedenheiten beziehen sich auf die Bedeutung, das Vorkommen und die Entstehung der die spezifische, leicht demonstrierbare Immunitätsreaktion hervorrufenden Substanzen, beziehungsweise Bedingungen.

Soweit die Gruppe der bakteriellen Toxine in Betracht kommt, wird ziemlich ohne Diskussion angenommen, dass das Auftreten einer einzigen antagonistischen Substanz, des betreffenden Antitoxins, in den Körpersäften für eine befriedigende Erklärung der betreffenden Vorgänge genügt.

Bei der grösseren Gruppe, die vor allem die organisirten Elemente umfasst, erscheint diese einfache Auffassung nicht ausreichend: für eine grosse Reihe von Einzelfällen ist zur Auslösung der spezifischen Immunitätsreaktion das Zusammenwirken zweier Faktoren erwiesen.¹⁾

Dem einen derselben kommt ein ausgesprochen spezifischer Charakter zu. Er wirkt auf die betreffenden Elemente [sei es, dass er sich durch chemische Bindung an sie heftet,²⁾ sei es, dass er sie physikalisch imbibirt³⁾ oder um sie herum, wie Gase, Farbstoffe um Kohlenstaub, concentrirt⁴⁾] in der Weise ein, dass sie der lösenden, fällenden, verdauenden Wirkung des zweiten Faktors zugänglich werden, der sonst — wenn auch in den Körpersäften oder den betreffenden Seris vorhanden — jene nicht anzugreifen vermag.

Auf den ersteren Faktor (Substance sensibilisante, fixateur, Immunkörper, Amboceptor, Zwischensubstanz, Präparator der Autoren) betreffenden, zum Theil eben angedeuteten Controversen soll hier nicht eingegangen werden.

Dagegen soll versucht werden, das Wesen des zweiten Faktors (Alexin, Addiment, Complement) näher zu beleuchten, das ebenfalls in mehrfacher Hinsicht noch strittig erscheint.

Auf einer Seite wird angenommen, dass es sich um eine thermolabile Substanz handle, die regelmässig in normalen Seris, unabhängig von den cellulären Elementen des Blutes vorkomme; andererseits wird behauptet, dass diese Substanz im Gegentheil an die Leukocyten gebunden sei, dass sie erst beim Absterben derselben aus ihnen in das Blutserum austrete und daher im normalen Plasma garnicht existire; von anderen noch wird die Erzeugung des Alexins nicht nur den Leukocyten sondern auch anderen Körperzellen vindiziert; von einigen endlich wird die Existenz eines Alexins überhaupt in Abrede gestellt, und werden die Wirkungen des demselben entsprechenden Faktors bei Immun- und ähnlichen Reaktionen auf physikalische Bedingungen, z. B. bei Bakterio- und Hämolyse auf Aenderungen der osmotischen Verhältnisse zurückgeführt.

In jüngster Zeit sind nun von Gengou, Wassermann, Gruber, Besredka, Baumgarten⁵⁾ Untersuchungen mitgetheilt worden, welche die Feststellung dieser strittigen Punkte bezwecken.

Baumgarten gelangt hierbei zu dem Resultate, dass die von ihm seit Jahren verfochtene Auffassung, die Bakteriolyse in Seris beruhe im wesentlichen auf osmotischer Ernährungsstörung bei der Uebertragung der Bakterien in ein differentes Nährmedium, auch für die Hämolyse Geltung habe; die für dieselbe angenommene Alexinwirkung stelle nichts weiter als eine osmotisch bedingte Plasmolyse dar.

Der von Gruber mitgetheilte Versuch steht hierzu in ziemlich scharfem Gegensatz. Gruber erhielt durch intraperitoneale Injektion inaktivirten hämolytischen Serums (das nach Baumgarten keine osmotische Störung setzt) in den folgenden Tagen bei Meerschweinchen intensive Hämoglobinurie, Hämolyse in vivo. Dieses Ergebniss lässt sich wohl nur in sehr gezwungener Weise mit den Anschauungen Baumgarten's in Einklang bringen. Es könnte aber jedenfalls geltend gemacht werden, dass nach Gruber's eigenen Angaben die Seruminjektion zunächst zu massenhafter Exsudation in die Bauchhöhle Veranlassung giebt, dass diese und die darauffolgende Resorption sehr wohl zu Schwankungen der osmotischen Verhältnisse des Blutes geführt haben mögen, umso mehr, als von Hamburger, mir und Gervino auf die oft sehr abweichende molekuläre Concentration der Exsudate im Vergleich zum Blute hingewiesen ist, dass also die ideal isotonischen Verhältnisse, die nach Baumgarten eine Hämolyse auch bei Gegenwart von spezifischer Zwischensubstanz hintanhaltend, wohl nicht gegeben waren.

¹⁾ cf. Gruber, Zur Theorie der Antikörper. Münchener medizinische Wochenschrift 1901.

²⁾ Ehrlich und Morgenroth, Berliner klinische Wochenschrift 1899. — ³⁾ Bordet, Ann. Inst. Pasteur XV.

⁴⁾ Landsteiner, Wiener klinische Wochenschrift 1902, No. 2.

⁵⁾ Gengou, Ann. Inst. Pasteur XV. — Besredka, ibid. — Wassermann, Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten XXXVII. — Gruber, l. c. — Baumgarten, Berliner klinische Wochenschrift 1901, No. 52.

Ich glaube aber nicht, dass eine Nachprüfung dieser Verhältnisse geboten ist, da, unter anderem, meine anzuführenden Versuche unter Umgehung dieser complicirenden Umstände der Gruber'schen Auffassung direkt das Wort sprechen.

Gruber schliesst aus seinem Versuche, dass Alexin im cirkulierenden Plasma bereits fertig vorhanden ist.

Dies widerspricht der Metschnikoff'schen Anschauung, die in der neueren Arbeit Gengou's aus jenem Institut abermals zu präzisem Ausdruck kommt.

Gengou führt aus, dass die im Serum deutlich nachweisbare kräftige Alexinwirkung weit schwächer zu Tage tritt, wenn das entsprechende Serum aus von Leukocyten möglichst befreitem Plasma (durch Centrifugieren in der Kälte erhalten) gewonnen wird. Aus dieser Thatsache wird gefolgert, dass die Leukocyten nicht nur die Bildner des Alexins normaler Sera sind, sondern dass sie auch dasselbe in ihrer Leibessubstanz solange festhalten, als ihre normalen Lebensbedingungen in der Blutflüssigkeit nicht verändert werden.

Entstammt nun das im Gruber'schen Versuche wirksame Alexin einer Zerstörung der Leukocyten des Bauchhöhlenexsudates, über deren Schicksal wir während und nach der Resorption desselben nicht informiert sind? Oder ist dasselbe, wie Gruber anzunehmen neigt, unabhängig von diesen und ähnlichen Vorgängen präformiert im Blute enthalten?

Eine durchaus bestimmte Antwort in Bezug auf diese Fragen lässt sich aus jenem interessanten Versuch nicht folgern; ebensowenig wie aus der Versuchsanordnung Wassermann's, der durch Behandlung von Versuchsthiere mit normalem, also „complementhaltigem“ Serum die Erzeugung eines „anticomplementären“ Serums anstrebte und beobachten konnte, dass gleichzeitige Injektion desselben mit nicht tödtlicher Typhusdosis in die Bauchhöhle die Resistenz der Versuchsthiere soweit herabsetzte, dass sie bei bestimmtem Mischungsverhältniss sämtlich umkamen, während die Controllthiere am Leben blieben.

Es ist klar, dass dieser interessante Versuch schwer für die Ansicht Wassermann's in die Wagschale fällt, dass die natürliche Resistenz gegen Infektionen mit dem Vorkommen von Complementen (Alexin) im Thierkörper zusammenhängt, und dass weitere Complemente in den normalen Körpersäften vorkommen. Ganz uncomplicirt sind aber auch hier die gesetzten Verhältnisse nicht, und wie beim Gruber'schen Versuch sind Fragen und Zweifel betreffs der möglichen Wirksamkeit osmotischer Faktoren im reaktiven Bauchhöhlenexsudate, betreffs des Verhaltens der Leukocyten, möglich. Bereits Gruber hat auf diese Umstände hingewiesen, und Besredka die Bedeutung der Leukocyten experimentell behandelt und für diesen Fall behauptet.

Ich habe deshalb eine andere, sehr einfache Versuchsanordnung gewählt. Ich gewann aus frisch von der Ader gelassenem Blute spezifisch vorbehandelter Thiere durch einfache physikalische Mittel (Centrifugieren in der Kälte) reines Plasma und injizierte dasselbe dem entsprechenden Thiere. Falls sich in der Folge an demselben Erscheinungen nachweisen liessen, die der spezifischen Serumwirkung entsprachen, musste ich annehmen, dass im reinen Plasma der spezifische Antikörper mit allen seinen Componenten wie im Serum enthalten war und in vivo wie in vitro wirkte; ferner, dass, wenn die Wirkung auch bei entsprechend geringer Dosirung nachweisbar war, die Annahme einer Mitwirkung osmotischer Faktoren entfallen musste.

Ich benutzte zu diesen Versuchen das Blut von Hunden, die gelegentlich anderer Beobachtungen mit Kaninchenblutkörperchen injiziert wurden. Das Blut (50–100 ccm) wurde durch in die Arterie geführte Kanülen in in Eissalzmischung gekühlten Cylindern einer Runne'schen Centrifuge aufgefangen und sofort auf dieser in Eissalzmischung (bei prolongiertem Centrifugieren weiter in Eis) centrifugiert.

Während das Centrifugieren von staten ging, band ich einem frischen Kaninchen eine Glaskanüle centripetal in die Jugularis externa, dicht an einer Gabelung derselben, ein und klemmte temporär den entsprechenden Ast ab. Kanüle und entsprechendes Venenstück wurden mit physiologischer Kochsalzlösung rein ausgespült und gefüllt.

Von dem mittlerweile erhaltenen klaren Plasma wurden die obersten Schichten abpipettirt und unter Lösung der Klemme sofort langsam in der gewünschten Menge in die Vene injiziert, der geringe in der Kanüle verbleibende Rest allenfalls mit Kochsalzlösung nachgespült. Die bereits unter der Kanüle um den Venenast gelegte Schlinge wurde zugeschnürt, Kanüle und Klemme entfernt, die Hautwunde vernäht.

Der Eingriff ist unbedeutend; vom Beginn des Centrifugierens bis zum Ende der Operation verlaufen ca. 30 Minuten, vorausgesetzt, dass man, wie angedeutet, eine nicht zu geringe Blutmenge zur Plasmagewinnung heranzieht. Bei Injektion geringer Mengen (2–3 ccm) Plasma sind denn auch die Kaninchen gleich nach Beendigung des Eingriffes völlig wohl und munter, ebenso wie nach Injektion isotonischer Kochsalzlösung in der weit grösseren Menge von 20 und selbst mehr Kubikcentimetern.

Während aber die Versuchsthiere in letzterem Falle keine Folgeerscheinung aufweisen, tritt bei den mit Plasma (2–5 ccm) injizierten Kaninchen in den auf die Operation folgenden Stunden chemisch und spektroskopisch deutlich nachweisbare Hämoglobinurie auf, die 24–48 Stunden lang in wechselnder Stärke andauert. Oft sind hier-

bei die nach 12–24 Stunden entleerten Harnportionen stärker hämoglobinhaltig als die früher entleerten. Oefters, aber nicht constant, wird die Hämoglobinurie von Urobilinurie begleitet.

Der ganze Versuch mit Plasmainjektion verläuft demnach wie ein Serumversuch in vitro; durch seine Anwendung wird die Schwierigkeit umgangen, Blutplasma im Thermostaten ungeronnen zu erhalten, wie andererseits der etwaigen Schädlichkeit osmotischer Schwankungen durch die regulatorischen Vorrichtungen des lebenden Organismus vorgebeugt wird.

Dunkelrothorn Harn, wie Gruber, habe ich nicht erhalten; eine Hämoglobinurie schwerster Art, wie er sie erzielte, kam also in meinen Experimenten nicht zum Vorschein, wohl weil ich mit ziemlich geringen Mengen hämolytischen Plasmas arbeitete. Die Anwendung grösserer Mengen entsprach aber einerseits nicht den Versuchsbedingungen, die ich mir gestellt hatte, andererseits war sie wegen sonstiger schädlicher Wirkungen des Plasmas nicht angezeigt, indem schon die Injektion von ca. 5 ccm von stundenlang andauernder Abgeschlagenheit, von 10 ccm öfter schon vom Tode des Versuchsthiere gefolgt war. Der Umstand, dass die Plasmainjektionen gering dosirt und als solche von keinerlei stürmischen Erscheinungen gefolgt waren, thut der Beweiskraft meiner Versuche keinen Eintrag, sondern trägt, wenn ich die Verhältnisse richtig beurtheile, vielmehr dazu bei, ihr Resultat klarer und eindeutiger zu gestalten.

Dass bei den auf den Eingriff folgenden Erscheinungen Störungen des osmotischen Druckes des Blutes irgend eine Rolle spielen könnten, ist ohne weiteres auszuschliessen, wir müssten denn annehmen, dass die regulatorischen Vorrichtungen des Organismus gänzlich brachgelegt wären. Reaktive entzündliche Vorgänge, die in irgend einer Weise geringe Schwankungen der molekulären Concentration des Blutes hätten unterhalten können, waren nicht gegeben; die durch den Eingriff selbst gesetzte war (wenn überhaupt vorhanden) nur minimal und musste in kürzester Zeit ausgeglichen werden können, während die Hämoglobinurie im Gegentheil eine ziemlich protrahierte Erscheinung darstellte.

Auch die Bedeutung der Leukolyse für die Bildung des Alexins erscheint durch obige Versuche sehr zweifelhaft. Nach den Erfahrungen Gengou's hätten im in kürzester Zeit abcentrifugirten Plasma sich, wenn überhaupt, kaum Spuren von Alexin vorfinden können, dennoch aber hätten sich dieselben als genügend erwiesen, um in der starken Verdünnung durch die gesammte Blutmenge des Kaninchens ihre lytische Wirkung in deutlichster Weise hervortreten zu lassen.

Unter diesen Umständen lässt sich meines Erachtens der einfache Schluss nicht von der Hand weisen, dass beide Componenten der Hämolyse als solche schon im unveränderten Plasma präformiert, entsprechend der jüngst von Gruber gestützten Anschauung, vorhanden sind, sodass ich das Ergebniss meiner Beobachtungen in folgender Weise zusammenfassen möchte:

1. Dem Plasma sind dieselben hämolytischen Eigenschaften eigen, die an den entsprechenden Serumarten in vitro und in vivo nachgewiesen sind.

2. Diese Wirkung tritt unter Umständen zu Tage, durch welche das Eingreifen osmotischer Faktoren ausgeschlossen ist, — in Anbetracht der vollkommenen Analogie der in Frage kommenden Vorgänge erscheint demnach die Annahme unhaltbar, dass die hämo- und bakteriolytischen Wirkungen von Immun- und Normalseris auf einer Plasmolyse oder Plasmoptyse in Folge veränderter osmotischer Verhältnisse bei Uebertragung in fremdes Serum beruhen.

3. Soweit durch die an lytischen Seris ausgeführten Beobachtungen die Annahme gestützt erscheint, dass ihre spezifische Wirkung auf einem Zusammenwirken zweier Substanzen — sensibilisante und Alexin, Zwischenkörper und Complement — beruht, müssen wir auch annehmen, dass dieselben bereits im unveränderten Plasma vorhanden und dass Gerinnung, Leukolyse und postmortale Vorgänge für dieselben nicht von genetischer Bedeutung sind.