



No. 7.

Donnerstag, den 15. Februar 1906.

32. Jahrgang.

Aus dem Hygienischen Institut der Universität in Budapest. Sind die hämolytischen Immunkörper oder die Komplemente Katalysatoren, also Fermente?

Von Prof. L. v. Liebermann.

Im Anschluß an meine Versuche zur Entscheidung der Frage, ob die Toxine Fermente, resp. die Toxinwirkungen Fermentwirkungen sind,¹⁾ habe ich auch Versuche über die Wirkungsweise der Immunkörper (Ambozeptoren) und Komplemente ausgeführt und bin zu dem Resultat gekommen, daß man es auch hier nicht mit Fermentwirkungen zu tun hat. Ich will bemerken, daß, abgesehen davon, daß auch von anderer Seite Vermutungen über die Fermentnatur dieser Substanzen laut geworden sind,²⁾ ich selbst derjenige war, der auf eine solche Möglichkeit in konkreter Form hingewiesen habe,³⁾ freilich nur in der Weise, daß ich auf gewisse Analogien im Mechanismus der hier ablaufenden chemischen Prozesse aufmerksam machend, den Weg angezeigt habe, auf welchem diese interessante Frage zu lösen wäre. Immerhin war ich sehr geneigt, für die Fermentnatur der in Rede stehenden Stoffe einzutreten, sodaß die vorliegende Mitteilung meine eigene frühere Vermutung, wenigstens was die Hämolysen betrifft, zunichte macht.

Beschreibung der Methode und Versuche.

Kaninchen wurden durch Injektion von mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschenen Schweineblutkörperchen (5%ige Emulsion in physiologischer NaCl-Lösung) gegen diese immunisiert. Nach drei- bis viermaliger Injektion von je 1 ccm Emulsion an drei bis vier aufeinanderfolgenden Tagen wurde das Blut durch Stich in eine Ohrvene entnommen und sofort zentrifugiert. Das Serum enthält dann reichlich für Schweineblutkörperchen hämolytische Immunkörper. Auch normales Kaninchenserum, besonders das der langohrigen „Lapins“, enthält sehr häufig solche. Das Serum wird nun durch halbstündiges Erwärmen auf 56° C inaktiviert. Um die Wirkungsweise des Immunkörpers zu untersuchen, werden in mehrere Eproutetten gleiche Mengen Schweineblutkörperchenemulsion, ebenfalls

gleiche Mengen inaktivierten Immunsersums und steigende Mengen eines, das Komplement liefernden Normalserums gegeben. Dieses kann Schweineblutserum sein für den Fall, daß die normalen Kaninchensera selbst schon hämolytisch wirken (siehe oben). Die Flüssigkeiten werden dann, mit physiologischer NaCl-Lösung überall auf gleiches Volumen gebracht, in den Thermostaten (37°) gestellt. Nach Ablauf verschiedener langer Zeit werden sie herausgenommen, zentrifugiert, die Flüssigkeiten abgossen und in ihnen der Hämoglobingehalt bestimmt. Der Zentrifugenrückstand muß stets noch reichliche Mengen unveränderter Blutkörperchen enthalten.

Angenommen, der hämolytische Immunkörper wäre ein Ferment, so müßte, da ein solches bei der Reaktion nicht verbraucht, sondern immer wieder frei wird, die Hämolysen, also der Hämoglobingehalt der abzentrifugierten Flüssigkeiten, mit steigenden Mengen Normalserums (Komplement) und bei längerem Aufenthalt im Thermostaten zunehmen. Findet man aber im Gegenteil bald eine Grenze, d. h. zeigt es sich, daß der Inhalt zweier Eproutetten trotz beträchtlich höherem Gehalt an Komplement und trotz sehr verschiedenen langem Aufenthalt im Thermostaten die gleiche Hämoglobinemenge in Lösung hat, so ist dies ein Beweis dafür, daß die gesamte Menge des zugesetzten Immunkörpers verbraucht war, daß er also kein Ferment ist.

Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt:

	I.	II.	III.	IV.	
Schweineblutkörperchenemulsion	40	40	40	40	Tropfen
Inaktiviertes Immunesum	4	4	4	4	„
Normalserum aus Schweineblut	8	16	32	64	„
Physiol. NaCl-Lösung	56	48	32	0	„
Zusammen	108	108	108	108	

I, II und III blieben 1 Stunde 15 Minuten im Thermostaten, IV 2 Stunden lang.

Die sofort nach dem Verlassen des Thermostaten abzentrifugierten und vom agglutinierten Rückstand vollkommen abgossenen Flüssigkeiten zeigten folgendes:

- I. schwache Rotfärbung,
- II. viel stärkere Rotfärbung,
- III. } noch stärkere Rotfärbung, aber untereinander gleich.
- IV. }

In III und IV wurde Hämoglobin mit Fleischls Hämometer in gelbbraunem Licht¹⁾ quantitativ bestimmt. Es wurde gefunden:

¹⁾ Zu Hämoglobinbestimmungen mit Fleischls Hämometer empfehle ich, das zum weißen Reflektor gelangende Licht eine braungelbe Glasplatte passieren zu lassen, die man

1) Deutsche medizinische Wochenschrift 1905, No. 33, S. 1301. — 2) Siehe die jüngst erschienene Arbeit von O. Bail, diese Wochenschrift 1905, No. 45. Bail ist geneigt, den bei der Bakteriolyse neben dem Immunkörper beteiligten Stoff für ein Ferment zu halten. — 3) Pflügers Archiv Bd. 104, S. 207.

für III 81,1 und für IV 79,4 Skalenteile des Häometers im Mittel aus zehn gut übereinstimmenden Ablesungen. Der Hämoglobingehalt kann demnach als unverändert gelten. Die Hämolyse hatte also in Eprouvette IV trotz doppeltem Gehalt an Komplement und fast doppelt so langer Wirkungszeit als in Eprouvette III nicht mehr zugenommen. Dabei waren noch reichlich unhämolysierte Blutkörperchen im Rückstand. Der Immunkörper ist also kein Ferment.

Ganz ähnlich wurden die Versuche ausgeführt zur Entscheidung der Frage, ob das Komplement als Ferment wirke? Hier wurde die Menge des Normalserums, als der komplementhaltigen Flüssigkeit konstant erhalten, hingegen die Menge des bei 56° inaktivierten Immunserums (der Immunkörper führenden Flüssigkeit) gesteigert.

Als Beispiel diene folgender Versuch:

	I.	II.	III.	IV.	
Schweineblutkörperchenemulsion	0	40	40	40	Tropfen
Normalserum aus Schweineblut	4	4	4	4	"
Inaktiviertes Immunserum	4	8	16	32	"
physiol. NaCl-Lösung	28	24	16	0	"
Zusammen	76	76	76	76	Tropfen

Sämtliche Eprouvetten kamen gleichzeitig in den Thermostaten. Es blieben darin: I. 1/2 Stunde, II. 1 Stunde, III. 2 Stunden, IV. 4 Stunden. Die sofort nach dem Verlassen des Thermostaten zentrifugierten und von reichlichen unhämolysierten Blutkörperchen abgossenen Flüssigkeiten zeigten folgendes:

- I. starke Rotfärbung,
- II. noch stärkere Rotfärbung,
- III. | noch stärkere Rotfärbung.
- IV. | aber untereinander gleich.

In III und IV wurde das gelöste Hämoglobin, wie früher angegeben, bestimmt. Für beide wurde im Mittel aus 10 Ablesungen genau der nämliche Hämoglobingehalt, nämlich 81,5 der Fleischschen Skala gefunden. Da aber der Inhalt der Eprouvette IV trotz doppeltem Gehalt an Immunkörpern und doppelt so langer Wirkungszeit keine stärkere Hämolyse gezeigt hat als der Inhalt der Eprouvette III und da beide noch reichlich unhämolysierte Blutkörperchen enthielten, sodaß also in Eprouvette IV an diesen kein Mangel war, so ist es erwiesen, daß bei der Hämolyse auch das Komplement verbraucht wird, demnach nicht als Ferment wirkt.

Schließlich will ich noch einem möglichen Einwand begegnen. Man könnte vielleicht versucht sein, anzunehmen, daß die Komplemente bei vierstündigem Aufenthalte im Thermostaten (37°) endlich vernichtet oder geschwächt werden, sodaß sich das Ausbleiben einer Steigerung der Hämolyse vielleicht dadurch erklären würde. Ich habe mich davon überzeugt, daß dies nicht der Fall ist. Versetzt man gleiche Mengen Schweineblutkörperchen-Aufschwemmung mit gleichen Mengen inaktivierten Kaninchenimmunserums, gibt zu einer Probe normales Schweineblutserum, zur anderen die gleiche Menge eines solchen, welches aber vorher vier Stunden lang im Thermostaten gestanden hatte, so erweisen sich doch beide Gemische nach gleicher Zeit genau gleich hämolysiert.

Schlußwort. Wie man aus Vorstehendem sieht, gründet sich der Nachweis, daß die bei der Hämolyse beteiligten Stoffe, — Immunkörper und Komplement — nicht als Fermente wirken, ebenso wie meine früheren, oben zitierten Versuche mit gewissen Toxinen, auf dem von der Wissenschaft strenge formulierten und a. a. O. eingehender besprochenen Begriff der Fermente. Es ist dringend notwendig, diesen Begriff festzuhalten und nicht willkürlich zu erweitern, sonst verliert man den Boden unter den Füßen, und es entsteht Verwirrung wie jedesmal, wenn man sich nicht strenge an eine gegebene Definition hält.

Man mag also noch so viele Ähnlichkeiten zwischen Toxinen, Antitoxinen etc. und Fermenten sehen oder ver-

muten, sobald das Wesentliche, das, worauf sich die Definition eines Fermentes gründet, — Vermittlung einer Reaktion zwischen anderen Stoffen, ohne, wenigstens scheinbar, an ihr selbst teilzunehmen — nicht zutrifft, hört die Berechtigung auf, Toxine, Antitoxine, Agglutinine, Hämolysine etc. Fermente zu nennen.

Es ist keine pedantische Wortklauberei oder bloßes Theoretisieren ohne praktische Bedeutung, sondern im Gegenteil von größter praktischer Wichtigkeit, darüber klar zu werden, ob die in Rede stehenden Stoffe Fermente sind oder nicht; denn von der Entscheidung dieser Frage hängt nicht nur das Verständnis ihrer Wirkungen ab, sondern in weiterer Folge auch die Wahl des Weges zum weiteren rationalen Ausbau der Immunitätslehre. Angenommen z. B., gewisse bakteriolytische etc. Immunkörper erwiesen sich, im Gegensatz zu meinen Befunden an den von mir untersuchten Fällen, in der Tat als Fermente, so wäre es sehr fraglich, ob es rationell wäre, deren Menge behufs künstlicher Immunisierung über ein gewisses, zum genügend raschen Ablauf der Reaktion eben ausreichendes Maß zu steigern und ob es nicht vielmehr angezeigt erschiene, auf irgend eine Weise nur noch für eine Vermehrung der Komplemente zu sorgen, da ja der Immunkörper, welcher nur als Vermittler zwischen Zelle und Komplement wirken und aus dieser Reaktion wieder unverändert hervorgehen würde, stets in unverminderter Menge vorhanden sein müßte, wenn wir von etwa eintretenden Nebenreaktionen oder von Ausscheidungen durch den lebenden Organismus (Dinge, die aber erst erforscht werden müßten), die ihn eventuell langsam schädigen, resp. entfernen könnten, einstweilen absehen. Ist aber der Immunkörper kein Ferment, so kann es eventuell notwendig sein, dessen Menge auf das höchstmögliche Maß zu steigern, gleichzeitig aber auch auf irgend eine, noch durch Versuche festzustellende Weise für eine Vermehrung des Komplementbestandes zu sorgen, eine Forderung, die, wenn ich nicht irre, zuerst von Dönitz, wenn auch nicht auf Grund desselben Gedankenganges, erhoben wurde.

einfach an den Rand des kleinen Apparates lehnt. Die Glasplatte ist richtig gefärbt, wenn blaue Gegenstände, durch die Platte gesehen, völlig schwarz erscheinen. Auf diese Weise erhält man, besonders mit verdünnten Lösungen, vortreffliche Resultate, bedeutend bessere als bei der gebräuchlichen Anwendung von Petroleumlampen oder sonstigen, an gelben Strahlen reichen Lichtquellen.