IX.

Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut und dem chemisch-pathologischen Laboratorium der k. k. Rudolfstiftung in Wien.

Ueber das Verhalten des Blutglobulins beim Immunisierungs-vorgange.

Von

Dr. Karl Glaessner.

Seitdem man weiss, dass der Organismus gegen jede nicht auf dem gewöhnlichen Wege des Magendarmcanals (parenteral) erfolgende Eiweisszufuhr mit der Bildung von specifischen Antikörpern reagirt und diese Reaction in ihrer fast mathematischen Genauigkeit einen chemischen Vorgang darzustellen scheint, hat es an Versuchen nicht gefehlt, die Alterationen, die der Körper bei der Immunisirung erfährt, auch in rein chemischen Veränderungen des wichtigsten Indicators bei der Immunisation: des Blutes nachzuweisen.

A priori ist nun eine solche Anschauungsweise sicher berechtigt, wenn auch Zweifel darüber walten mögen, ob ein so subtiler Vorgang, wie es die Bildung der Antikörper ist, durch grobe Verschiebungen in der Blutzusammensetzung zum Ausdruck gebracht werden könnte.

Meines Erachtens müsste man beim Studium dieser Verhältnisse unterscheiden zwischen Veränderungen im Blute bei der Immunisirung mit Toxinen und bei der mit Eiweisskörpern, weil ja bei ersterer häufig viel weniger specifisches Eiweiss zur Immunisirung hinreicht als bei der Erzeugung von Praecipitinen.

Arbeiten in ersterer Richtung sind die von Szontagh und Wellmann (1) angestellten Versuche, welche den Gesamteiweissgehalt beim Diphtherieheilserum vermehrt fanden, ein Befund, der von Butjagin (2) bestätigt wurde. Seng (3) hat die Globuline bei demselben Serum in wechselnder Menge nachzuweisen vermocht und Atkinson (4) glaubte direct einen Parallelismus zwischen Globulin und Antitoxinmenge zu finden. Neuerlich hat Joachim (5) bei der Untersuchung von Pferdeserum vor und nach der Immunisirung mit Diphtherietoxin eine erhebliche Zunahme des Gesamtglobulin feststellen können, welche charakteristischer Weise das antitoxinfreie Euglobulin betraf. Langstein und Mayer (6) gelang es bei der Infection bzw. Immunisation mit verschiedenen Bacterien im Blutplasma grössere Differenzen gegenüber

der Norm zu finden und sie kommen bezüglich der Pneumokokkeninfection zu dem Schlusse, dass dieselben eine Fibrinogenvermehrung, ein seit langem bekannter Vorgang [Reye (7) und vor allem Pfeiffer (8)], im Blut erzeuge, die für den Erreger geradezu specifisch sei.

In der zweiten Richtung (Immunisirung mit Eiweisskörpern) bewegen sich die interessanten Versuche von Moll (9), die einer eingehenderen Erörterung unterzogen werden sollen. Moll hat Kaninchen mit Pferdeserum, Ziegenserum, Milch, Eialbumin, Wittepepton, Gelatine immunisirt und eine colossale Vermehrung der Globulinfraction des Blutserums auf Kosten des Serumalbumines gefunden. Aehnliche Resultate erhielt er auch bei Verwendung von isolirten Eiweisskörpern als Euglobulin, Pseudoglobulin, krystallisirtem Albumin, Alkalialbuminat etc. Moll gelangt in Anbetracht seiner überraschenden Versuchsergebnisse zu dem Schluss, dass bei der Immunisirung gegen Proteinstoffe im Blute Substanzen entstehen, die eine Globulinvermehrung im Serum zur Folge haben, ohne eigentliche Globuline zu sein. Er glaubt ferner für die Präcipitinbildung den Nachweis geliefert zu haben, dass in der Blutveränderung, nämlich in der Globulinzunahme keine blosse Begleiterscheinung, sondern eine wesentliche die Präcipitinbildung bedingende Veränderung gegeben sei.

In der Absicht, die Eigenschaften der Immunkörper und speciell die Natur der Eiweisspräcipitate zu studiren, habe ich mich bemüht, an einem ziemlich grossen Versuchsmaterial der Frage der Globulinvermehrung im Blut beim Immunisierungsvorgang näherzutreten und habe zwei Reihen von Experimenten angestellt, deren erste die Veränderungen des Blutes bei Bakterien- bzw. Toxinimmunisation, deren zweite die bei Eiweissimmunisation betrifft.

I. Blutveränderungen bei Immunisation mit Bakterien bzw. Bacterientoxinen.

a) Bei Kaninchen.

Was zunächst die Methodik betrifft, so wurden die Thiere mit steigenden Gaben von Bacterienaufschwemmungen, die bei einer Temperatur von 55° abgeschwächt waren, durch 6 Wochen immunisirt, bis ein hoher Agglutinationsgrad erreicht worden war, dann durch Aderlass getödtet. Vor der Immunisirung war durch einen entsprechenden Aderlass die Controllbestimmung ermöglicht. Es wurde sowohl Serum als Plasma untersucht, da ja nach den Arbeiten von Langstein und Mayer sowie von Reye möglicherweise auch der Fibrinogengehalt hätte gesteigert gefunden werden können. Im Blutserum bzw. Plasma wurde sowohl der Gesamt-N-Gehalt als auch der Globulin-N-Gehalt bestimmt. Die Aussalzung erfolgte mit Ammonsulphat nach der üblichen Methode.

Versuch I: 6 Kaninchen wurden mit Typhusbacillen immunisirt, indem jede Woche durch 6 Wochen hindurch anfangs 2 steigend bis 5 ccm einer Kochsalzaufschwemmung einer Agarcultur, die bei 55° 2 Stunden lang belassen worden war, injicirt wurden. Agglutinationswerth des Immunserums 1 : 10 000.

S e r u m

No.	Gewicht vor der Immunisirung	Gewicht nach der	Gesamt- N-pCt. vor der Immun.	Globulin- N-pCt. vor der Immun.	Gesamt- N-pCt. nach der Immun.	Globulin- N-pCt. nach der Immun.
	g	g				
I	2 200	2 300	1,61	0,45	1,60	0,46
II	2 600	2 600	1,36	0,33	1,40	0,38
III	2 230	2 500	1,68	0,43	1,60	0,50
IV	1 450	1 200	1,40	0,34	1,36	0,48
V	2 550	2 750	1,43	0,44	1,50	0,52
VI	2 570	2 600	1,40	0,48	1,38	0,52

P l a s m a

No.						
I	siehe oben	siehe oben	1,30	0,44	1,25	0,40
II			1,20	0,38	1,36	0,26
III			1,30	0,52	1,40	0,42
IV			1,25	0,46	1,30	0,62
V			1,35	0,47	1,42	0,52
VI			1,40	0,50	1,44	0,54

Aus den Tabellen ist ersichtlich, dass die meisten Thiere im Verlauf der vorsichtigen Immunisirung an Gewicht zunehmen, bis auf Thier IV, das erheblich an Gewicht verliert. Die Globulinwerthe bleiben annähernd constant, nur bei dem Thier IV ist sowohl im Serum, als vorwiegend im Plasma eine erhebliche Globulinvermehrung zu verzeichnen.

Versuch II: Immunisation mit Coli-Bakterien wie oben. Erreichter Agglutinationswerth 1:8000. Dauer 5 Wochen.

No.	Gewicht vor der Immunis- irung	Gewicht nach der Immunis- irung	Gesamt-N vor der Imm.		Globulin-N vor der Imm.		Gesamt-N nach der Imm.		Globulin-N nach der Imm.	
			Serum pCt.	Plasma pCt.	Serum pCt.	Plasma pCt.	Serum pCt.	Plasma pCt.	Serum pCt.	Plasma pCt.
I	2 250	2 300	1,20	1,31	0,42	0,48	1,30	1,41	0,48	0,52
II	2 500	2 100	1,30	1,25	0,46	0,42	1,20	1,16	0,62	0,58
III	2 350	2 000	1,30	1,42	0,36	0,42	1,42	1,27	0,58	0,56
IV	2 600	2 400	1,27	1,40	0,36	0,43	1,36	1,42	0,46	0,42
V	2 650	2 700	1,36	1,26	0,42	0,46	1,36	1,38	0,48	0,52
VI	2 100	2 300	1,16	1,10	0,42	0,48	1,25	1,22	0,52	0,56

Auch hier ist eine nur geringfügige Globulinzunahme zu constatiren mit Ausnahme von Thier II, dessen Globulin-N-Werth von 0,46 bzw. 0,42, auf 0,62 bzw. 0,58 pCt. steigt und Thier III, das eine Globulin-N-Vermehrung von 0,36 bzw. 0,42 auf 0,58 bzw. 0,56 pCt. erkennen lässt. Beide Thiere sind erheblich abgemagert.

b) Bei Pferden.

Zunächst wurde eine Reihe normaler Pferdesera untersucht und Gesamt-N sowie Globulin-N-Gehalt festgestellt.

Versuch III:

No.	Gesamt-N-pCt.	Globulin-N-pCt.
I	1,40	0,68
II	1,23	0,64
III	1,23	0,67
IV	1,23	0,87
V	1,40	0,74
VI	1,36	0,67

Versuch IV: Die Untersuchung einer Reihe von Immunpferdesera ergab folgende Werthe:

No.	Name des Pferdes	Gesamt-N-pCt.	Globulin-N-pCt.	Art des Immunserums
I	Electra . .	1,31	0,75	Dysenterie (Bact.)
II	Drusus . .	1,20	0,60	Streptokokken (Bact.)
III	Ebroin . .	1,33	0,77	Coli (Bact.)
IV	Mylight . .	1,20	0,67	Tetanus (Toxin)
V	Goffo . .	1,25	0,69	Diphtherie (Bact.)

Bei Gegenüberstellung der beiden Tabellen ergibt sich, dass keine wesentlichen Unterschiede weder im Gesamt-N-Gehalt noch im Globulingehalt zwischen dem Serum normaler und immunisirter Pferde angenommen werden können. Es ist somit hochgradiger Immunkörpergehalt ohne Globulinsteigerung möglich.

II. Blutveränderungen bei Immunisirung mit Eiweisskörpern.

Bei der Vornahme dieser Versuche wurden ausschliesslich Kaninchen verwendet.

a) Immunisirung mit Pferdeserum.

Die Thiere wurden, nachdem sie sich von dem Aderlass erholt hatten, wöchentlich durch 4 Wochen hindurch mit je 10 ccm Pferdeserum immunisirt, nach Erlangung einer hohen Präcipitingrösse durch Aderlass getödtet. Das Blutserum und Blutplasma wurde der Bestimmung des Gesamt-N und Globulin-N-Gehalts unterzogen.

Versuch V.

Vor der Immunisirung:

Kaninchen No.	Gewicht g	Gesamt-N-pCt. (Serum)	Gesamt-N-pCt. (Plasma)	Globulin-N-pCt. (Serum)	Globulin-N-pCt. (Plasma)
I	2 050	1,25	1,35	0,42	0,48
II	2 000	1,23	1,35	0,35	0,42
III	2 300	1,26	1,28	0,38	0,40
IV	2 100	1,16	1,25	0,35	0,37

Nach der Immunisirung:

I	1 700	1,40	1,45	0,58	0,56
II	1 500	1,38	1,35	0,62	0,60
III	1 800	1,29	1,40	0,60	0,62
IV	2 000	1,26	1,36	0,35	0,38

Kaninchen I, II, III zeigt bedeutende Abnahme des Körpergewichts und dementsprechend, fast proportional eine sehr beträchtliche Steigerung des Globulingehaltes, sowohl im Plasma als auch im Serum. Zu bemerken ist, dass die genannten Thiere sehr herabkamen und zuletzt stark verfielen, während die Fresslust relativ gut erhalten war.

b) Immunisirung mit Rinderserum.

Es wurde ähnlich wie oben vorgegangen, doch wurde länger immunisirt, die Dauer der Immunisirung erstreckte sich auf 8 Wochen, es wurde jede Woche einmal injicirt und die Mengen von 5 ccm bis auf 10 ccm gesteigert.

Versuch VI.
Vor der Immunisirung:

Kaninchen No.	Gewicht g	Gesamt- N-pCt. (Serum)	Gesamt- N-pCt. (Plasma)	Globulin- N-pCt. (Serum)	Globulin- N-pCt. (Plasma)
I	2 300	1,31	1,20	0,46	0,46
II	2 650	1,38	1,29	0,43	0,45
III	2 500	1,35	1,26	0,43	0,37
IV	2 750	1,43	1,29	0,52	0,45

Nach der Immunisirung:

I	2 080	1,36	1,32	0,49	0,49
II	2 160	1,42	1,25	0,64	0,64
III	2 100	1,40	1,25	0,59	0,54
IV	2 350	1,47	1,32	0,61	0,63

Auch aus diesen Versuchen ist eine deutliche Vermehrung des Globulingehaltes im Verlaufe der Immunisirung ersichtlich, die sich namentlich bei den stark abgemagerten Thieren (2, 3, 4) geltend macht. Ein Unterschied zwischen Serum und Plasma konnte nicht festgestellt werden.

Endlich wurde ein Versuch der Immunisirung mit ganz geringen Serummengen angestellt. Im Laufe von 6 Wochen wurden zwei Kaninchen in der ersten Woche 1 ccm bis zu 6 ccm steigend Rinderserum beigebracht.

Vor der Immunisirung:

Kaninchen No.	Gewicht g	Gesamt- N-pCt.	Globulin- N-pCt.
I	2 600	1,42	0,45
II	3 200	1,38	0,48

Nach der Immunisirung:

I	2 550	1,37	0,48
II	3 100	1,42	0,48

Bei dieser Versuchsanordnung ergibt sich gar keine Veränderung des Globulingehaltes.

Aus den vorliegenden Versuchen ist somit ersichtlich, dass sowohl Bacterien-, Toxin- als Eiweissimmunisirung eine Globulinvermehrung im Serum wie im Plasma bewirken kann, aber nur dann, wenn die Thiere stark auf die Injectionen reagiren; wird die Immunisirung vorsichtig gehandhabt, so kommt es nicht zur Globulinvermehrung. Die Globulinvermehrung ist ferner viel ausgesprochener bei der Immunisirung mit Eiweisssubstanzen als mit Bacterien oder Toxinen, aus Gründen, die anfangs auseinandergesetzt wurden. Moll, der ganz exorbitante Globulinvermehrung aufweisen konnte, hat auch enorme Gewichtsverluste bei seinen Thieren gefunden.

Es ergibt sich nun die Frage: steht wirklich die bei manchen Thieren im Verlauf der Immunisirung auftretende Globulinvermehrung in ursächlichem Zusammenhang mit der Antikörperbildung, ja ist sie gar eine Bedingung derselben, wie es Moll annimmt, oder ist sie nur eine Begleiterscheinung, die neben der Immunisirung einhergeht.

Darauf geben meines Erachtens meine Versuche eine gewisse Antwort, indem ich zeigen konnte, dass sowohl hochwerthige Immunsera normale Globulinwerthe aufweisen können, als auch, dass es gelingt durch vorsichtiges Abstufen der Immunisirung die Vermehrung der Globuline hinanzuhalten, ferner die Thatsache, dass die Globulinvermehrung zeigenden Thiere sich in schlechtem Allgemeinzustand befinden, der allerdings eine Folge der Immunisirung sein kann. In interessanter Weise wird diese meine Ansicht gestützt durch die Arbeit von Githens (10), der nachweisen konnte, dass bei Hunden im Hunger der Globulingehalt des Blutes auf Kosten des Albumins zunimmt und ähnliche Werthe erreicht, wie man sie bei der Immunisirung findet. Schliesslich sind die Inanition in Folge ungenügender Nahrungszufuhr und die Inanition infolge stärkeren Eiweisszerfalls verwandte Zustände.

In allerjüngster Zeit haben Friedemann und Isaac (11) in einer sehr interessanten Mittheilung gezeigt, dass der Immunisirungsvorgang mit beträchtlichen Stoffwechseleränderungen einhergeht, sie fanden, dass Ziegen vor Eintreten der Immunität den injicirten Stickstoff retinirten, während nach der Immunisirung colossale Harnstickstoffvermehrung eintritt. Durch andauernde Anhäufung artfremden Eiweisses in den Geweben scheinen somit Störungen des Stoffwechsels einzutreten, die aber wahrscheinlich mit dem Immunisirungsvorgang nichts zu thun haben.

Warum endlich gerade das Globulin der bei der Immunisirung vermehrte Eiweisskörper ist, wage ich nicht zu entscheiden. Denkbar ist es, dass das Globulin, welches ja auch gegen das stärkste proteolytische Ferment, das Trypsin, eine grosse Resistenz zeigt, auch bei den Stoffwechselstörungen in der Immunisirungsperiode schlechter angegriffen und abgebaut wird.

Fasse ich die Resultate meiner Versuche kurz zusammen, so konnte constatirt werden: 1. Bei der Immunisirung mit Bacterien, Toxinen und Eiweisskörpern kann es zu einer Globulinvermehrung im Blut kommen, die dann auftritt, wenn die Thiere schwerere Stoffwechselstörungen zeigen, die aber bei vorsichtiger Anwendung der Immunisirung nicht aufzutreten braucht.

2. Der Globulingehalt im Plasma und im Serum der Immunthiere ist nicht wesentlich von einander verschieden. 3. Somit scheint die Globulinvermehrung mehr einen secundären, der Immunisierungsinanition entsprechenden Charakter zu besitzen und keinen directen Zusammenhang mit der Bildung und dem Vorhandensein der Antikörper zu haben.¹⁾

Literatur.

1. Szontagh und Wellmann, Deutsche med. Wochenschrift. 1898.
2. Butjagin, Hygienische Rundschau. 1902.
3. Seng, Zeitschr. f. Hygiene u. Infectiouskrankh. 31, 513.
4. Atkinson, Journal of exp. med. 5.
5. Joachim, Arch. f. d. ges. Physiol. 93.
6. Langstein und Mayer, Hofmeisters Beiträge 5, 1904.
7. Reye, Dissertation Strassburg. 1898.
8. Pfeiffer, Zeitschr. f. klin. Med. 33, 215, 1897.
9. Moll, Hofmeister's Beiträge. 4, 1903.
10. Githens, Hofmeister's Beiträge. 5, 1904.
11. Friedemann und Isaac, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therapie. 1, 1905.

1) Um Missverständnisse zu vermeiden, möchte ich kurz darauf hinweisen, dass durch die hier auseinandergesetzten Befunde die von Freund und Pick festgestellte Thatsache, dass das Antitoxin an der Globulinfraction des Immunserums hängt nicht alterirt wird. Das Antitoxin ist an die Globulinfraction gebunden und wird nicht nur physikalisch mitgerissen, eine Thatsache, die schon daraus hervorgeht, dass durch Kali-Alaun mächtige Eiweiss-Niederschläge im Blutserum erzeugt werden können, ohne dass das Antitoxin in dieselben übergeht.