XV.

Aus dem königlichen Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.

Ueber die Beziehungen des Serums zu gewissen Nährstoffen (Glykogen, Albumosen, Pepton).

Von

Geh. Med.-Rath Prof. Dr. **A. Wassermann** und Dr. **Julius Citron**,

Abtheilungsvorsteher am Inst. f. Infektionskrankh.

Assistent am Inst. f. Infektionskrankh.

(Mit 6 Curven im Text.)

Das Studium der bei der Einführung körperfremder Stoffe in den lebenden Organismus sich abspielenden Vorgänge hat zum grossen Theil die experimentelle Forschung der letzten beiden Decennien beherrscht. In erster Linie standen dabei solche Stoffe, welche bei ihrer Einführung auf den normalen Gleichgewichtszustand der Organe störend einwirken, d. h. Krankheiten erzeugen. Im ausgesprochensten Maasse ist dies bei den Infectionsstoffen der Fall, und deshalb wurden gerade diese besonders eingehend untersucht. Indessen gehört das Eindringen von infectiöser Substanz in den menschlichen oder thierischen Organismus zu den Ausnahmen, während die Einführung einer grossen Reihe anderer körperfremder Substanzen (der Nährstoffe) eine normale und unumgänglich nöthige Lebensbedingung darstellt. Es war Ehrlich, welcher den hier zwischen Physiologie und Pathologie bestehenden Uebergang erkannte und ihm in seiner Theorie in klarster Weise Rechnung trug. Ehrlich drückte das dahin aus, dass bei der Wirkung von Bakterientoxinen auf Zellen sich die gleichen Vorgänge abspielen, wie bei der Assimilation von Nährstoffen. Ja, er ging zur Ueberraschung der damaligen wissenschaftlichen Welt so weit zu behaupten, dass die echten Toxine die von ihnen bekannten Wirkungen im Organismus nur ausüben können, sofern der Organismus sie wie Nährstoffe behandeln, d. h. sie assimiliren kann. Teleologisch ist also nach Ehrlich die Ursache des Eintritts eines Toxinmoleküls in eine Zelle der alle lebenden Zellen beherrschende Ernährungsdrang, der jedes für sie assimilirbare Molekül dem Zellprotoplasma einverleibt, ganz gleich ob dieses den ursprünglichen Chemismus der Zelle unbeeinflusst lässt oder ihn stört. Im ersteren Fall wirkt dieses Molekül als Nährstoff, im zweiten als Toxin. So paradox Anfangs diese Ehrlich'schen Lehren klangen, so verloren sie bald diesen Eindruck durch den Fort-

gang der experimentellen Forschung. Es zeigte sich nämlich durch Versuche von Bordet, dass die ausgesprochenste Nährflüssigkeit, die wir kennen, die Milch, in ihrem wichtigsten Nährantheil, den Eiweisstoffen, experimentell durchaus den gleichen Gesetzen folgt, wie wir sie bei den echten Infectionsstoffen erheben können. Man war im Stande durch Vorbehandlung von Thieren mittels Milch echte Antistoffe gegenüber Milcheiweiss zu erzielen; ja diese vollkommene Uebereinstimmung konnte noch weiterhin demonstriert werden, indem sich auch das zweite Characteristicum der Infectionsstoffe, die Specificität, für die Nährstoffe nachweisen liess. Durch die Arbeiten von Fish und A. Wassermann konnte gezeigt werden, dass das Kuhcasein specifisch verschieden vom Menschencasein ist, und Wassermann gab diesem Verhalten Ausdruck durch die Einführung der Bezeichnung homologes und heterologes Eiweiss. Indessen war es zunächst nur möglich, derartige Befunde für native, nur wenig veränderte Eiweisskörper zu erheben. Schon für die weiteren Abbauprodukte der Eiweisslösungen, so wie sie im Organismus nach der Magen- und Darmverdauung zur Resorption gelangen, besonders aber für weitere Nährstoffe war es lange Zeit nicht geglückt, experimentell in dieser Richtung etwas zu erforschen. Allerdings stand für das Studium dieser Dinge auch nur eine einzige Versuchsanordnung bisher zur Verfügung, die Präcipitirmethode. Diese Methode konnte jedoch nur bei solchen Stoffen in Anwendung kommen, bei deren Zusammentreten mit specifischem Serum eine Coagulation einzutreten vermag.

Das beschränkt sich auf Substanzen von eiweisartigem Bau, wie besonders die Versuche von Klein (1) beweisen. Klein bemühte sich, festzustellen, woran die Fähigkeit gewisser Stoffe als präcipitogene Substanz zu wirken gebunden sei, und zwar liess er sich bei seinen Untersuchungen von folgenden vier Gesichtspunkten leiten, nämlich ob die als Antigen wirkenden Substanzen körperfremd, colloidal, stickstoffhaltig und assimilierbar sein müssen. Auf Grund dieser angeführten Gesichtspunkte versuchte Klein, Kaninchen mit Stärke, Glykogen, Traubenzucker, Gummi und Leim zu immunisiren. Das Resultat seiner Untersuchungen war, dass alle diese Substanzen in gleicher Weise sich unfähig erwiesen, Antikörper, d. h. Präcipitine zu bilden, gleichviel ob colloidale Körper (Stärke, Glykogen, Gummi, Leim) oder nicht colloidale (Zucker) verwendet wurden, ob diese Substanzen N-haltig (Leim) oder N-frei (Stärke, Glykogen, Zucker, Gummi) waren, ob dieselben assimilationsfähig (Stärke, Glykogen, Zucker, Leim) oder nicht assimilationsfähig (Gummi) waren und ob die assimilierbare Substanz körperfremd (Hühnerglykogen für Kaninchen) oder körperv verwandt (Kaninchenglykogen für Kaninchen) war.

Trotz dieser Misserfolge Klein's ist die zu lösende Frage keineswegs in negativem Sinne entschieden, denn es besteht sehr wohl die Möglichkeit, dass einzelne dieser Stoffe zwar Antikörper zu bilden vermögen, dass aber mit Hülfe der Präcipitirmethode der Nachweis derselben nicht möglich ist.

Dass die Fähigkeit, Antikörper zu bilden, sich nicht auf die nativen

Eiweissstoffe beschränkt, das haben die Versuche von Jacoby (2) und vor allem von Obermeyer und Pick (3) gezeigt.

Jacoby wies nach, dass Ricinimmunserum mit durch Trypsin gereinigter eiweissfreier Ricinlösung einen mächtigen Niederschlag giebt.

Obermeyer und Pick stellten Untersuchungen über die Bildung von Immunpräcipitinen durch chemisch veränderte Eiweissstoffe an, die zu sehr bemerkenswerthen Resultaten führten. Sie fanden, dass Eiweisskörper, die durch Erhitzen, Säure, Alkali, Formaldehyd und Toluol verändert waren, oder die der tryptischen Verdauung¹⁾ oder dem oxydativen Abbau ausgesetzt waren, die Fähigkeit, Präcipitine zu bilden, bewahrt hatten. Die mit solchen veränderten Eiweisssubstanzen erzeugten Sera zeigten zwar Unterschiede gegenüber den mit nativem Eiweiss gewonnenen Immunseris, indem sie meist eine grössere Reactionsbreite besaßen, in der wichtigsten Eigenschaft aber, der strengen Artspecificität stimmten sie mit ihnen überein. Aus diesen Versuchen ziehen Obermeyer und Pick den Schluss, dass in den Eiweisskörpern zweierlei Gruppierungen vorhanden sind, von denen die eine, die originäre Gruppierung, die Artspecificität bedingt, während die andere, die constitutive Gruppierung, die durch die jeweilige Gesamtstruktur des Eiweisskörpers beeinflusste Specificität bewirkt. Die oben angegebenen Eingriffe verursachen also nur eine Veränderung der constitutiven Gruppierung, während die originäre unberührt bleibt. Im Gegensatz hierzu bewirken andere Eingriffe, wie die Jodirung, die Nitrirung und die Diazotirung des Eiweisses eine Veränderung der originären Gruppe und lassen die constitutive unbeeinflusst. Dieses zeigt sich darin, dass z. B. das Immunserum von Kaninchen, die mit jodirtem Rindereiweiss vorbehandelt wurden, auch jodirtes Eiweiss anderer Säugethiere, ja selbst von Vögeln und Pflanzen zu präcipitiren vermochte, während auf nicht jodirtes Eiweiss keine Reaction eintritt.

Die peptische Verdauung endlich, sowie gewisse autolytische Prozesse verändern bei genügend langer Einwirkung das Eiweiss derart, dass es seine präcipitogene Eigenschaft verliert [Obermeyer und Pick (3 u. 4), Michaelis und Oppenheimer (5)²⁾]. Es ist unter diesen

1) Auch Rostoski (6) und Sacconaghi (7) erhielten mit trypsinverdaulichem Eiweiss Präcipitine, während Michaelis und Oppenheimer (5), sowie P. Th. Müller (8) negative Resultate hatten. Fleischmann (9) erzielte durch Vorbehandlung mit trypsinverdaulichem Rinderserum bei einem Kaninchen ein Serum, das zwar das verdaute Eiweiss nicht beeinflusste, dagegen mit nativem Rinderserum eine deutliche und mit heterologem Eiweiss (Hammel- und Ziegen血清, sowie Eiklar) eine schwache Präcipitation gab.

2) Rostoski (6) und Sacconaghi (7) erzielten auch mit peptischen Verdauungsproducten von Pferdeserumalbumin Präcipitine. Was die Specificität anbelangt, so prüfte Sacconaghi nur die constitutionelle und fand folgendes. Jedes einzelne präcipitirende Serum gab eine Präcipitation mit jeder der benutzten Lösungen von Verdauungsproducten verschiedener Stadien. Die Niederschlagsbildung stand im Verhältniss: 1. zur Intensität der präcipitirenden Kraft des Serums, so dass z. B. unter den verschiedenen Seris dasjenige, welches mit einer Lösung den

Umständen nicht möglich mit Hülfe der Präcipitinreaction zu entscheiden, welche Gruppierung hierbei angegriffen wird. Da jedoch gerade die peptische Verdauung die Form ist, welche im Organismus in erster Reihe auf die Nährstoffe einwirkt, so ist gerade die Entscheidung der Frage, ob die Abbauproducte der peptischen Verdauung noch als Antigen zu wirken vermögen und noch artspecifisch sind, von besonderem Interesse.

Es musste sich daher empfehlen, als in neuerer Zeit die Aufmerksamkeit auf die bereits vor 6 Jahren von Bordet und Gengou (10) veröffentlichte Methode der Complementfixation zum Nachweis von Antikörpern von Amboceptorenbau gelenkt wurde, diese Methode auch für das Studium der Beziehungen von Körpersäften und Nährstoffen verschiedener Art heranzuziehen, zumal Gengou (11) selbst bereits bezüglich einer Reihe von Nährstoffen eiweissartiger Natur, wie Milch und Fibrinogen nachgewiesen hat, dass sich beim Immunisirungsprocess nicht nur Präcipitine, sondern auch Amboceptoren zu bilden vermögen.

Das Wesen der Bordet-Gengou'schen Methode besteht bekanntlich darin, dass durch den Zusammentritt einer Antigensubstanz mit einer einpassenden bindenden Substanz von Amboceptorenbau eine erhöhte Avidität für das in den normalen Körpersäften vorhandene Complement entsteht, sodass das Complement an die Verbindung Antigen + Amboceptor fest verankert wird. Die Complementbindung weisen Bordet und Gengou dadurch nach, dass sie nach einem gewissen Zeitintervall Erythrocyten und eine genau bestimmte Menge eines specifischen hämolytischen Serums zusetzen, das durch Erhitzen auf 56° inactivirt, d. h. seines Complements beraubt wird. Da das inactive Hämolysin nur bei Gegenwart von freiem Complement die Erythrocyten aufzulösen vermag, so besitzen wir in dem Eintreten oder Ausbleiben der Hämolysen ein Reagens von ausserordentlicher Feinheit für den Nachweis, ob in dem Gemisch freies Complement vorhanden war oder nicht. Der Nachweis von freiem Complement erlaubt aber Rückschlüsse darauf, ob in der zu untersuchenden Flüssigkeit der vermuthete amboceptorartige Antikörper vorhanden war oder nicht. Hierbei kommen in sehr weitgehendem Maasse Mengenverhältnisse in Frage, indem nicht stets alles Complement gebunden wird, sondern oft nur ein Theil desselben. Dieses äussert sich dann darin, dass die Hämolysen nicht vollständig ausbleibt, sondern dass eine mehr oder minder unvollständige Hämolysen eintritt.

Bei der ganzen Versuchsanordnung, deren Details weiter unten gegeben werden sollen, spielen die quantitativen Verhältnisse eine ausschlaggebende Rolle, da sehr viele Substanzen die Fähigkeit haben, Complement zu binden, wie dies Wilde (12) für erhitzte Bakterienemulsionen und Aleuronat, v. Dungern (13) für Hefe, v. Lingels-

stärksten Niederschlag hervorrief, auch mit den anderen die stärkste Fällung gab; 2. zum Verdauungsproduct in dem Sinne, dass von den verschiedenen Lösungen diejenige, die mit einem Serum den stärksten Niederschlag gab, auch mit den übrigen das stärkste Präcipitat erzeugte.

heim (14) für Carrageenschleim und Wendelstadt (15) für Glykogen, Inulin und Wittepepton gezeigt haben. In gleicher Weise wie die angeführten Substanzen vermögen zahlreiche andere zu wirken, so Tuberkulin [Wassermann und Bruck (16)], natürliche und künstliche Aggressine [Citron (17)], Colloide [Landsteiner und Stankovic (18)], ja Uhlenhuth (19) konnte selbst für Sackleinwand scheinbar das gleiche Phänomen beobachten.

Diese Erscheinung hat, wie wir aus der Litteratur und aus zahlreichen persönlichen Mittheilungen wissen, zu einer gewissen Verwirrung und Unsicherheit geführt, weshalb wir hier kurz auf diesen Punkt eingehen müssen. Zunächst ist zu bemerken, dass nicht alle oben erwähnten Substanzen in gleicher Weise auf das Complement wirken. Während wir bei einigen dieser Substanzen eine physikalische Absorption annehmen müssen, handelt es sich bei anderen um eine echte biologische Complementbindung, die nur scheinbar ohne Vermittelung eines Amboceptors durch das Antigen selbst erfolgt. Es wird hierbei oft übersehen, dass wir garnicht in der Lage sind, Antigen und Complement allein miteinander zu mischen, weil in dem complementhaltigen Normalserum stets ausser dem Complement auch Normalamboceptor vorhanden ist. Es entsteht nun die Frage, ob und wie die rein physikalische Absorption von der biologischen Bindung zu unterscheiden ist. Der Weg, den wir einschlugen, war folgender. Da die Complementbindung proportional der Menge der bindenden resp. absorbirenden Substanz zu sein pflegt, so stellten wir diejenige Menge der zu untersuchenden Substanz fest, die nicht mehr ausreicht, um für sich allein Complemente zu fixiren. Hierauf setzten wir inactives Normalserum und Complement zu dieser unterbindenden Dosis zu, d. h. wir wiederholten den Versuch mit der Abänderung, dass wir die Zahl der Normalamboceptoren vermehrten. In den Fällen nun, in denen unter dem Einfluss der vermehrten Normalamboceptoren die unterbindende Quantität der untersuchten Substanz deutlich Complement zu binden vermag, wie wir dies bei Glykogen und gewissen Albumosen gesehen haben, liegt der Gedanke nahe, dass es sich um einen biologischen Vorgang handelt, während wir beim Ausbleiben der Complementbindung mit Sicherheit sagen können, dass die bei höherer Dosis der untersuchten Substanz auftretende Complementfixation keine biologische, sondern eine physikalisch-chemische Reaction ist. Also beispielsweise wir bestimmten, dass 0,002 Glykogen allein nicht mehr im Stande ist Complement zu binden und die Hämolyse zu hemmen, während grössere Quantitäten von Glykogen dies thun. — Setzten wir nun aber zu dieser allein nicht mehr bindenden Menge von Glykogen etwas normales inactivirtes Kaninchen-serum zu, und zwar gleichfalls in einer für sich nicht hemmenden Menge, so trat nun unter der Combination dieser beiden Factoren deutliche Complementbindung und Hemmung der Hämolyse auf. — Um eine Summirung zweier an sich nicht bindender Dosen konnte es sich dabei nicht handeln, da selbst mehrfache Multipla der verwendeten Dosen jede für sich allein die Hemmung nicht ergaben, diese war vielmehr in diesen Fällen eine Folge der Combination des betreffenden Nährstoffes mit dem normalen Serum.

Es ergibt sich hieraus als selbstverständliche Consequenz, dass man von jeder Substanz sich zunächst überzeugt, ob und in welchem Grade sie ohne Zusatz eines inactiven Normal- oder Immunserums Complement zu binden vermag. Es genügt jedoch keineswegs eine derartige Bestimmung einmal zu machen und das so gewonnene Resultat dann als feststehende Norm anzusehen. Es liegt vielmehr in dem Wesen der Methodik begründet, dass die unterbindende Dosis schwankt, selbst wenn es sich um Substanzen handelt, die nicht in sich selbst die Ursache zu Veränderungen tragen, oder unter dem Einfluss der Atmosphäre, von Licht und Temperatur solche eingehen. Alle mit der Complementbindungsmethode möglichen Resultate sind nur relative Werthe, sie drücken das Verhältniss der Bindungsaffinität zwischen dem Complex von Antigen-Amboceptor und dem Complex Hämolysin-Blut zum Complement aus. Da nun von den fünf in Betracht kommenden Factoren (Antigen, Amboceptor, Complement, Hämolysin und Blut) selbst bei genauester Arbeitstechnik einige wie das Complement, der hämolytische Amboceptor und das Blut, Schwankungen unterliegen, so ergibt sich daraus die Unmöglichkeit, Werthe, die an einem Tage gefunden werden, ohne weiteres auf einen anderen Tag zu übertragen. Dieses gilt selbst, wenn man das hämolytische Serum aufbewahrt und bei einer erneuten Austitrirung denselben Titer für die Hämolyse wie vordem findet. Es ist nämlich möglich, dass der Titer erhalten bleibt, die Avidität zu dem Erythrocyten aber geringer wird und dass folglich bei dem Complementbindungsversuch sich nun leichter Bindungen des Complements an den Antigen-Amboceptorcomplex nachweisen lassen, indem schwache, lockere Bindungen desselben nun nicht mehr gelöst werden. Es ergeben sich auf diese Weise leicht Trugschlüsse. Nehmen wir z. B. an, dass man, um den Nachweis der Entstehung von Immunkörpern in einem Serum zu führen, in der Weise verfährt, dass man einem Thiere Serum entzieht, dann eine Injection des Antigens macht und nach z. B. 8 Tagen erneut Serum entzieht und dann findet, dass während vor der Injection des Antigens das Normalserum in der Dosis 0,2 cem die nicht complementbindende Dosis von 0,1 cem Antigen zur Complementbindung befähigt hat, jetzt das Immunserum in der Dosis von 0,1 cem die gleiche Wirkung entfaltet, so ist damit noch keineswegs der Nachweis geliefert, dass sich der Gehalt an Amboceptoren verdoppelt habe, denn in den 8 Tagen kann sich, selbst wenn die anderen Factoren constant geblieben sein sollten, die Avidität des Hämolysins zu den Erythrocyten um die Hälfte vermindert haben und so eine Steigerung der Avidität der Verbindung Antigen-Amboceptor vorgetäuscht werden. Es ist deshalb folgende Versuchsanordnung nothwendig:

1. Es ist der Gehalt an Amboceptoren des Normalserums bei dem Thiere vor der Injection zu bestimmen.

2. Es ist der Gehalt an Amboceptoren desselben Serums noch einmal an dem Tage zu bestimmen, an dem das Immunserum aus-titrirt wird.

Selbst diese Versuchsanordnung ist noch nicht beweisend, denn

durch die Aufbewahrung des Normalserums während der 8 Tage kann sich die Avidität der Amboceptoren zum Antigen verringern und so beim Vergleich mit dem frischen Immunserum eine Vermehrung von Amboceptoren in letzterem vorgetäuscht werden. Es ist deshalb noch eine weitere Untersuchung nothwendig. Man muss nämlich noch ein anderes, frisch entzogenes Normalserum zum Vergleich heranziehen. Da aber der Gehalt des Normalserums an Amboceptoren bei verschiedenen Thierindividuen recht verschieden sein kann, so genügt ein Serum keineswegs hierzu, weil so dem Zufall ein zu weiter Spielraum bleibt, es müssen vielmehr eine ganze Reihe von verschiedenen Normalseris zum Vergleich untersucht werden.

Nur Versuche, die mit Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte sowie folgender Controlen angestellt werden, berechtigen zu Schlüssen¹⁾.

Controle I. Doppelte Menge Antigen + Complement + Hämolysin + Blut; hier darf keine oder nur eine geringe Hemmung der Hämolysen eintreten.

Controle II. Doppelte Menge Antikörper (Immunserum) + Complement + Hämolysin + Blut; hier darf ebenfalls keine oder nur eine geringe Hemmung eintreten.

Diese beiden Controlen sind deswegen nothwendig, um den Summirungseinwand auszuschliessen, d. h. dass es sich bei der Hemmung gar nicht um eine durch Zusammentreten von Antigen und Antikörper bewirkte Complementbindung, sondern um eine durch Vermehrung des auch in der zu untersuchenden Flüssigkeit enthaltenen Antigens und hierdurch bewirkter Complementfixation handelt.

Controle III. Das auf Antikörper zu untersuchende Kaninchenserum muss bezüglich seines normalen hämolytischen Vermögens für Hammelblut austitriert sein. Es genügt eine einmalige Bestimmung. Diese Controle ist nothwendig, weil die meisten Kaninchensera normaler Weise Hammelblutkörperchen lösen, also einen normalen hämolytischen Amboceptor für Hammelblut besitzen. Hierbei kommen oft bedeutende Unterschiede vor; so haben zwar in unseren Versuchen die meisten Sera erst bei 0,2 oder 0,1 cem 1 cem 5proc. Hammelblut bei Gegenwart von 0,1 cem Meerschweinchencomplement aufzulösen vermocht, gelegentlich kamen aber auch Sera zur Beobachtung, die einen hämolytischen Titer von 0,01 cem hatten. Es ist klar, dass ein so stark hämolytisches Serum bei der gleichen Versuchsanordnung einen viel schwächeren Gehalt an Antiglykogen z. B. vortäuschen wird als ein anderes Kaninchenserum, dessen hämolytischere Titer 0,2 cem ist.

1) Leider hat Fleischmann (9) in seiner bereits oben citirten Arbeit bei den mit Hülfe der Bordet-Gengou'schen Methode der Complementfixation ausgeführten Versuchen die wichtigste Controle nicht angestellt, indem er die Prüfung eines normalen Kaninchensersums unter den gleichen Versuchsbedingungen unterliess. Das scheinbar so auffallende Verhalten des Röhrchens 7 des Fleischmann'schen Versuchs könnte einfach darauf zurückzuführen sein, dass 0,2 cem des inactiven Kaninchensersums die Hämolysen hemmte, während 0,1 cem hierzu noch nicht ausreichte. Es würde sich also hier um eine Summirung und nicht um eine specifische Wirkung gehandelt haben.

Wir haben daher von dem Zeitpunkte ab, als uns die Bedeutung dieser Controle klar wurde, bei jedem Kaninchen, bevor wir es vorzubehandeln begannen, den hämolytischen Titer bestimmt und für vergleichende Untersuchungen nur solche Thiere gewählt, die einen annähernd gleichen Titer besaßen.

Aber selbst, wenn man diese Vorsichtsmaassregeln unterlassen hat, ist diese Controle oft nützlich. Nehmen wir den Fall an, dass zwei Sera scheinbar den gleichen Gehalt an Antiglykogen haben, es zeigt sich aber, dass das Serum I zehnmal so viel Hämolysin als das Serum II hat, so ergibt sich daraus der Schluss, dass das Serum I in Wirklichkeit auch mehr Antiglykogen enthält, da es sonst schwächer hätte erscheinen müssen als Serum II.

Controle IV. Hämolysin + Complement + Blut.

Controle V. Complement + Blut.

Controle VI. Kochsalzlösung + Blut.

Leider sind nicht alle unsere Versuche mit Berücksichtigung aller nothwendigen Cautelen angestellt worden. Es rührt dies daher, dass uns zu der Zeit, als wir diese Versuche begannen (Januar 1906), die Fehlerquellen zum grössten Theil noch unbekannt waren. Erst im Laufe der hier veröffentlichten Untersuchungen lernten wir die zahlreichen Schwierigkeiten der Methodik kennen, und nur bei den später ausgeführten Experimenten konnten wir die Erfahrungen, die wir bei der Anstellung unserer zahlreichen Versuche erworben hatten, verwerthen.

Da für die Nachprüfung unserer Resultate die von uns angewandte Technik von ausschlaggebender Bedeutung ist und jede, auch geringfügige Abweichung einen Vergleich ausschliessen würde, so geben wir im Folgenden eine detaillirte Beschreibung unserer Methodik.

Wir verfahren stets so, dass wir jede der 5 für einen Versuch in Betracht kommenden Substanzen auf die Menge von 1 ccm brachten. Fällt eine der Substanzen aus, so tritt an deren Stelle 1 ccm 0,85 proc. Kochsalzlösung. Die Reihenfolge des Zusatzes der Substanzen war stets folgende: Antigen, hypothetischer Amboceptor, Complement. Hierauf 1 Stunde Brütschrank zur Bindung des Complements. Dann Zusatz von Hämolysin und Blut. Gutes Durchschütteln. 2 Stunden Brütschrank und bis zum anderen Morgen auf Eis.

Das Antigen wurde von uns, sofern es sich nicht um Serum handelte, in Trockensubstanz aufbewahrt und jedesmal am Tage des Versuchs eine genau abgewogene Menge aufgelöst.

Die auf Amboceptoren zu prüfenden Sera wurden meist so gewonnen, dass das Blut am Versuchstage entzogen und nach dem Gerinnen centrifugirt und dann sofort inactivirt wurde. Namentlich das Inactiviren durch Erhitzen ist bei den Complementbindungsversuchen absolut nothwendig, es genügt nicht, active Sera längere Zeit stehen zu lassen, um sie zu inactiviren. Vielmehr sind solche Sera oft für den Bindungsversuch ganz unbrauchbar, indem sie selbst ohne Zusatz von Antigen die Hämolyse zu hemmen vermögen.

Als hämolytisches System benutzten wir Hammelblut, Kaninchenhämolysin und Meerschweinchencomplement. Zur Herstellung des hämo-

lytischen Serums wurden Kaninchen intravenös mit zweimal gewaschenen Hammelerythrocyten vorbehandelt. 3—4 derartige Injectionen in Zwischenräumen von 5 Tagen genügen meist, um sehr hochwerthige Sera (Titer 1:1000—1:5000) zu erhalten. 8 Tage nach der letzten Injection wird das Thier entblutet, das Serum in Mengen von 1—2 ccm in Reagensgläschen abgefüllt und $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° C. erhitzt. Hierauf wird der Titer des Serums bestimmt. Nach 4 Tagen wird die Titration des Serums wiederholt. Die Titration geschieht in der Weise, dass 1 ccm Serumverdünnung mit 1 ccm normalen frischen Meerschweinchenserums in der Verdünnung 1:10 und 1 ccm 5 proc. zweimal gewaschener Hammelblutkörperchenaufschwemmung miteinander gemischt werden und hierauf die Gesamtflüssigkeitsmenge auf 5 ccm durch Zusatz von 2 ccm 0,85 proc. Kochsalzlösung gebracht wird. Die Ablesung des Titers erfolgt nach zweistündigem Aufenthalt der Mischung im Brutschrank bei 37°. Ein hämolytisches Serum sollte für Complementbindungsversuche frühestens 4 Tage nach der Entnahme in Verwendung kommen, weil der Titer oft in den ersten Tagen sich ändert, dann aber längere Zeit constant zu bleiben pflegt.

Für den Bindungsversuch wird von uns stets die doppelt lösende Dosis Hämolysins verwandt.

Mit dieser Methodik nun schritten wir zur Untersuchung einer ganzen Reihe von Nährstoffen, wie Gelatine, Glykogen, Albumosen, Peptonen, Lecithin und Fett. Alle diese Substanzen hatten mit einer Ausnahme (Seidenpepton) die Eigenschaft, durch Complementbindung resp. Absorption antihämolytisch zu wirken. Besonders war dies bei dem Fett und dem Lecithin¹⁾ der Fall, wenn man wässrige Emulsionen hierzu verwendete. Wie bereits oben dargelegt, liegt nach unserer Auffassung hier ein physikalisches Phänomen vor, das nur eine äussere Aehnlichkeit mit der biologischen Bindung besitzt. Trotz vielfacher Bemühungen konnten wir bisher bei diesen Substanzen mit Hilfe der Bordet-Gengou'schen Methode keine Beziehungen zu gewissen Serums-substanzen feststellen, weder im Serum von unbehandelten Kaninchen noch im Serum von Thieren, die lange Zeit subcutane Injectionen von Lecithin oder Oel bekommen hatten.

Ueber die Gelatine müssen wir uns kurz fassen, da nur wenige informatorische Vorversuche angestellt wurden, aus denen sich jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit biologische Beziehungen zu Normal- und selbst zu Immunamboceptoren vermuthen lassen. Wir behalten uns die weitere Bearbeitung dieses Kapitels vor.

1) Das hier Gesagte bezieht sich nur auf das von uns benutzte Lecithin-Agfa. Ueber andere Präparate haben wir keine Erfahrungen. — Es sei hier bemerkt, dass, wenn man zu nicht mehr hemmenden Dosen Lecithin (bei uns war dies die Menge von 0,0001 g) 0,1 oder 0,2 ccm inactiven Serums, das am selben Tage entnommen worden, zufügt, man gelegentlich ganz schwache Hemmungen der Hämolyse beobachten kann. Wiederholungen, die mit dem gleichen Serum an folgenden Tagen vorgenommen wurden, ergaben dann aber stets negative Resultate. Wir sind bis auf Weiteres nicht geneigt, in diesen Hemmungen die Wirkung von amboceptorenartigen Substanzen zuzunehmen.

Den wichtigsten Theil der vorliegenden Untersuchungen bilden unsere Studien über Glykogen und einige Albumosen- und Peptonpräparate, die der peptischen Verdauung unterlegen waren, sowie über Drüsen- und Seidenpepton.

Glykogen.

Die meisten unserer Versuche wurden mit einem von der Firma Merck in Darmstadt bezogenen und als *Glycogenum purissimum* bezeichneten Präparat angestellt, über dessen Herstellungsweise uns nichts bekannt ist. Eine im Laboratorium des Geh. Regierungsrathes Prof. Proskauer vom Assistenten des Instituts Dr. Seligmann vorgenommene chemische Untersuchung des Präparates ergab, dass dieses frei von Eiweiss war, aber Spuren von Stickstoff enthielt. Das Präparat löst sich in 0,85proc. Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur gut auf und giebt eine gleichmässige, opalescirende Lösung.

In Bestätigung der Versuche Wendelstadt's (15) fanden wir, dass Glykogen allein Complement zu binden vermag. Für das von uns angewandte hämolytische System von Titer 1:1000, das wir in der Menge von 1:500 für den grössten Theil der Bindungsversuche mit diesem Glykogen benutzen konnten, fanden wir, dass erst die Menge von 0,002 g Glykogen (d. h. 1 ccm der Lösung von 0,2 g Glykogen auf 100 ccm 0,85proc. Kochsalzlösung) nicht mehr genügte, um Complement zu binden, d. h. der Zusatz von 0,002 g Glykogen Merck störte in unseren Versuchen nicht die Hämolyse. Es ist selbstverständlich, dass hier von einer absoluten Zahl keine Rede ist, dass vielmehr für jedes System erst durch Versuche die nicht mehr complementbindende Dosis des Glykogens eigens festgestellt werden muss. Auch bei uns war an den verschiedenen Tagen keineswegs dasselbe Verhalten vorhanden, trotzdem wir mit demselben hämolytischen Serum arbeiten konnten, aber die Schwankungen waren einerseits nur geringfügig, andererseits ergaben immer wieder ausgeführte Wiederholungen eine so übereinstimmende Constanz der Resultate, dass uns trotz der grossen Unsicherheit der Bordet-Gengou'schen Methode gewisse Schlüsse möglich wurden. Der wichtigste Schluss, den wir machen konnten, war der, dass der Zusatz inactiven normalen Kaninchenserums zu der nicht mehr bindenden Dosis Glykogen Complementbindung bewirkt. Dieses Phänomen steht in vollkommener Analogie zu den bei bactericiden und Eiweissimmunseris beobachteten Erscheinungen und legt den Gedanken nahe, dass es sich hier um die Wirkung einer im normalen Serum vorkommenden Substanz von amboceptorartiger Wirkung handelt. Wie sich aus dem folgenden Protokoll ergibt, ist der Gehalt der normalen Sera an solchen Glykogenamboceptoren, wie wir, ohne uns präjudiciren zu wollen, diese Substanzen vorläufig nennen wollen, meist nur gering. Von den 11 untersuchten Seris hatten nur drei den Titer 0,06 ccm, zwei den Titer 0,08 bis 0,1 ccm und sechs einen Titer, der über 0,1 ccm lag, wobei wir unter Titer des Serums die Serummenge verstehen, deren Zusatz zu einer nicht mehr hemmenden Dosis Glykogen diese zur hemmenden macht.

[illegible]

Zur Erklärung dieser und der folgenden Tabellen sei bemerkt, dass

0 = vollständige Hemmung der Hämolyse,

Kuppe = unvollständige Hemmung der Hämolyse mit Bildung einer Kuppe ungelöster Erythrocyten,

incomplet = incomplete Hämolyse, ohne deutliche Kuppenbildung,

complet = complete Hämolyse

darstellt.

Nachdem durch diese Versuche das Vorhandensein von bindenden Amboceptoren für unser Glykogen im normalen Serum wahrscheinlich gemacht war, versuchten wir Sicherheit darüber zu gewinnen, ob es sich hier um echte Amboceptoren handelt, indem wir uns bemühten durch Vorbehandlung von Thieren mit Glykogen eine spezifische Steigerung dieser glykogenbindenden Substanzen im Serum zu erhalten.

Zu diesem Zwecke gingen wir in der Weise vor, dass wir Kaninchen subcutan und intravenös in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöstes Glycogen. puriss. Merck injicirten und dann nach einer gewissen Zeit das Serum dieser Thiere austitirten. In den späteren Versuchen (Kaninchen No. 3—6) verfahren wir so, dass wir vor der ersten Injection den Thieren Serum entzogen und dieses, sowohl gleich nach der Entnahme, als auch später zusammen mit dem Immunserum prüften. Ausserdem wurden dann zum Vergleich noch frisch entzogene Normalsera, wie bereits oben dargelegt, in den Versuch gezogen. Das Serum, das bei verschiedenen Aderlässen gewonnen wurde, wurde auf Eis aufgehoben, um später erneut geprüft zu werden. Alle diese Einzelheiten sind aus folgenden Protokollen ersichtlich. Als besonders wichtig erachten wir den Vergleich der an demselben Tage ausgeführten Untersuchungen untereinander.

Versuch 1.

Glykogen-Kaninchen No. 1.

18. 1. 06.	1.	Injection:	0,1 g	Glykogen	subcut.	
22. 1. 06.	2.	"	0,04 g	"	intravenös.	
26. 1. 06.	3.	"	0,04 g	"	"	1. 2. Serum entnommen. Titer: 4. 2. 0,04, 7. 2. 0,04.
2. 2. 06.	4.	"	0,08 g	"	"	6. 2. Serum entnommen. Titer: 7. 2. 0,04. 9. 2. Serum entnommen. Titer: 10. 2. 0,06.
9. 2. 06.	5.	"	0,2 g	"	subcut.	
20. 2. 06.	6.	"	0,3 g	"	"	
						14. 2. Serum entnommen. Titer: 14. 2. 0,04.

Resultat der Hämolyse.

	Glykogen	Antiglykogen-Serum	Complement	Hämolytisches Serum	Blut pCt.	Nach der 3. Inject.	Nach der 4. Inject.	Nach der 5. Inject.	Nach der 6. Inject.
						Prüfung am	1. Aderlass Prüfung am	2. Aderlass Prüfung am	Prüfung am
						4. 2. 06.	4. 2. 06.	10. 2. 06.	14. 2. 06.
Control.	0,002	0,2	0,1	0,002	5	0	0	—	—
	0,002	0,15	0,1	0,002	5	0	0	—	—
	0,002	0,10	0,1	0,002	5	0, 1. H.	0, 1. H.	—	—
	0,002	0,08	0,1	0,002	5	0, 1. H.	0, 1. H.	—	—
	0,002	0,06	0,1	0,002	5	Kuppe	Kuppe	f. compl.	incompl.
	0,002	0,05	0,1	0,002	5	incompl.	Kuppe	compl.	f. compl.
	0,002	0,04	0,1	0,002	5	f. compl.	f. compl.	compl.	f. compl.
	0,002	0,03	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.
	0,002	0,02	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.
	0,002	0,01	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.
	0,002	—	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.
	—	0,2	0,1	0,002	5	compl.	—	—	compl.
	—	0,1	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.

Aus diesem Protokoll ergibt sich, dass der Titer dieses Serums verschiedentlich 0,05—0,04 ccm betrug. Da der Titer vor der Behandlung nicht bekannt war und durch weitere Injectionen kein Ansteigen desselben beobachtet wurde, so erlaubt dieses Protokoll keine weiteren Schlüsse. Nach der 6. Injection scheint der Titer geringer geworden zu sein (0,06 ccm).

Versuch 2.

Glykogen-Kaninchen No. 2.

Vorbehandlung.

18. 1. 06. 1. Injection: 0,1 g Glykogen subcut.

22. 1. 06. 2. " 0,16 g " "

26. 1. 06. 3. " 0,16 g " "

1. 2. Serum entnommen.

Titer: 4. 2. 0,02, 5. 2. 0,03, 7. 2. 0,03.

2. 2. 06. 4. " 0,12 g " "

6. 2. Serum entnommen.

Titer: 7. 2. 0,03, 8. 2. 0,02, 10. 2. 0,02.

9. 2. Serum entnommen.

Titer: 10. 2. 0,02, 14. 2. 0,03, 28. 2. 0,04.

9. 2. 06. 5. " 0,20 g " "

14. 2. Serum entnommen.

Titer: 14. 2. 0,03, 22. 2. 0,04, 12. 3. 0,05.

20. 2. 06. 6. " 0,3 g " "

27. 2. Serum entnommen.

Titer: 28. 2. < 0,05.

Resultate

	Glykogen	Antiglykogen	Complement	Hämolytisches Serum	Blut pCt.	Nach d. 3. Injection	
						Geprüft am	
						4. 2.	7. 2.
	0,002	0,1	0,1	0,002	5	0	0
	0,002	0,08	0,1	0,002	5	0	0
	0,002	0,06	0,1	0,002	5	0	0
	0,002	0,05	0,1	0,002	5	0, 1. H.	0, 1. H.
	0,002	0,04	0,1	0,002	5	0, 1. H.	Kuppe
	0,002	0,03	0,1	0,002	5	Kuppe	f. compl.
	0,002	0,02	0,1	0,002	5	f. compl.	compl.
	0,002	0,01	0,1	0,002	5	compl.	compl.
Controlen	0,002	—	0,1	0,002	5	compl.	compl.
	—	0,1	0,1	0,002	5	compl.	compl.
	—	0,05	0,1	0,002	5	compl.	compl.
	—	0,03	0,1	0,002	5	compl.	compl.
	—	0,01	0,1	0,002	5	compl.	compl.

Auch bei diesem Kaninchen war der Serumtiter vor den Glykogen-injectionen nicht bestimmt worden. Nach der 3. und 4. Injection war ein Titer von 0,02—0,03 ccm, nach der 5. Injection ein Titer von 0,03—0,04 ccm und nach der 6. Injection ein Titer von 0,05 festzustellen. Am 4. 2. 06, an dem dieses Serum den Titer 0,02 und das des Kaninchens No. 1 den von 0,04 ccm hatte, zeigten 4 Sera normaler Controlthiere die Titer 0,12; 0,06; 0,08 und 0,1. Bemerkenswerth ist in diesem wie in dem vorigen Versuche, dass weitere Injectionen kein Ansteigen des Titers, sondern ein Abfallen desselben zu bewirken scheinen, ein Punkt, auf den wir noch weiter zurückkommen wollen.

Versuch 3.

Glykogen-Kaninchen No. 3. (Normalserum No. V.)

5. 2. 06. 1. Injection: 0,1 g Glykogen subcutan.

8. 2. 06. 2. " 0,15 g " "

12. 2. 06. 3. " 0,30 g " " { 17. 2. Serum entzogen.
Titer: 17. 2. 0,08.
18. 2. Serum entzogen.
Titer: 19. 2. 0,09, 28. 2. >0,1.
21. 2. 06. 4. " 0,40 g " " 27. 2. Serum entzogen.
Titer: 28. 2. 0,06.

6. 3. 06. †.

der Hämolyse (Versuch 2).

Nach d. 4. Injection		Nach d. 4. Injection			Nach d. 5. Injection		Nach der
1. Aderlass		2. Aderlass			Geprüft am		6. Injection
Geprüft am		Geprüft am			Geprüft am		Geprüft am
7. 2.	10. 2.	10. 2.	14. 2.	28. 2.	14. 2.	22. 2.	28. 2.
0	0	0	0	0	0	—	—
0	0	0	0	0	0	—	—
0	0	0	0	0	0	—	—
0, 1. H.	0	0	Kuppe	Kuppe	Kuppe	kl. Kuppe	compl.
Kuppe	0	0	Kuppe	incompl.	Kuppe	incompl.	compl.
f. compl.	Kuppe	Kuppe	f. compl.	compl.	f. compl.	compl.	compl.
compl.	compl.	f. compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.

(Versuch 3).

Glykogen	Antiglykogen	Complement	Hämolytisches Serum	Blut pCt.	Vor der 1. Injection		Nach der 3. Injection			Nach der
					Prüfung am		1. Aderlass	2. Aderlass	Prüfung	4. Inject.
					5. 2.	17. 2.	17. 2.	18. 2.		
							Prüfung am 17. 2.	Prüfung am 19. 2.	Prüfung am 28. 2.	Prüfung am 28. 2.
0,002	0,2	0,1	0,002	5	0, 1. H.	—	—	—	—	—
0,002	0,18	0,1	0,002	5	0, 1. H.	—	—	—	—	—
0,002	0,16	0,1	0,002	5	0, 1. H.	—	—	—	—	—
0,002	0,14	0,1	0,002	5	Kuppe	—	—	—	—	—
0,002	0,12	0,1	0,002	5	Kuppe	—	—	—	—	—
0,002	0,10	0,1	0,002	5	Kuppe	compl.	Kuppe	Kuppe	compl.	Kuppe
0,002	0,08	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	incompl.	compl.	compl.	incompl.
0,002	0,06	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	compl.	compl.	compl.	incompl.
0,002	0,05	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,002	0,04	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,002	0,03	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,002	0,02	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,002	0,01	0,1	0,002	5	—	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
Control.	0,002	—	0,002	5	incompl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
—	0,2	0,1	0,002	5	compl.	compl.	—	—	compl.	compl.
—	0,1	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.

Bei diesem Kaninchen zeigt sich ein Ansteigen des Titters im Laufe der Behandlung von 0,1 auf 0,08 und 0,06. Da jedoch auch normale Sera den Titer von 0,06 bei uns gelegentlich hatten, so darf dieses Ergebniss nicht überschätzt werden.

Versuch 4.

Glykogen-Kaninchen No. 4. (Normalserum No. IX.)

17. 2. 06. 1. Injection: 0,2 g Glykogen subcutan. Normalserum IX. Titer: 19. 2. 0,1,
5. 3. >0,1.
21. 2. 06. 2. " 0,3 g " "
26. 2. 06. 3. " 0,4 g " " 4. 3. Serum entzogen.
Titer: 5. 3. 0,05, 8. 3. 0,05.

Glykogen	Antiglykogen	Complement	Hämolytisches Serum	Blut pCt.	Vor der 1. Injection		Nach der 3. Injection	
					Prüfung am		Prüfung am	
					19. 2.	5. 3.	5. 3.	8. 3.
0,002	0,10	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	0	0
0,002	0,09	0,1	0,002	5	compl.	compl.	0	—
0,002	0,08	0,1	0,002	5	compl.	compl.	0	—
0,002	0,07	0,1	0,002	5	compl.	compl.	Kuppe	Kuppe
0,002	0,06	0,1	0,002	5	compl.	compl.	Kuppe	Kuppe
0,002	0,05	0,1	0,002	5	compl.	compl.	incompl.	Kuppe
0,002	0,04	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.
0,002	0,03	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.
0,002	0,02	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.
0,002	0,02	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.
Controlen	0,002	—	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.
	—	0,1	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.
	—	0,08	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.
	—	0,05	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.

Dieser Versuch ist sehr interessant, da hier das Ansteigen des Titers sehr deutlich ist. Vor der Behandlung war der Titer 0,1, nach 3 Injektionen fand sich der Titer 0,05.

Versuch 5.

Glykogen-Kaninchen No. 5. (Normalserum No. XII.)

21. 2. 1. Injektion: 0,1 g Glykogen subcut. Normalserum XII. Titer: 21. 2. 0,06;
8. 3. 0,06.

26. 2. 2. „ 0,1 g „ intraven.

2. 3. 3. „ 0,1 g „ „ 7. 3. Serum entnommen.
Titer: 8. 3. 0,04; 13. 3. 0,08.

7. 3. 4. „ 0,3 g „ subcut. 13. 3. Serum entnommen.
Titer: 13. 3. 0,05.

13. 3. 5. „ 0,35 g „ „ 5. 4. Serum entzogen.
Titer: > 0,1.

Glykogen	Antiglykogen	Complement	Hämolytisches Serum	Blut pCt.	Vor der 1. Injektion		Nach der 3. Injektion		Nach der 4. Injekt.	Nach der 5. Injekt
					Prüfung am 21. 2.	Prüfung am 8. 3.	Prüfung am 8. 3.	Prüfung am 13. 3.	Prüfung am 13. 3.	Prüfung am 7. 4.
0,002	0,10	0,1	0,002	5	kl. Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	comp.
0,002	0,09	0,1	0,002	5	incompl.	Kuppe	Kuppe	—	—	—
0,002	0,08	0,1	0,002	5	incompl.	Kuppe	Kuppe	incompl.	Kuppe	compl.
0,002	0,07	0,1	0,002	5	incompl.	Kuppe	Kuppe	—	—	—
0,002	0,06	0,1	0,002	5	incompl.	incompl.	incompl.	compl.	incompl.	compl.
0,002	0,05	0,1	0,002	5	compl.	compl.	incompl.	—	incompl.	—
0,002	0,04	0,1	0,002	5	compl.	compl.	incompl.	—	compl.	—
0,002	0,03	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	—	compl.	—
0,002	0,02	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	—	compl.	—
0,002	0,01	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	—	compl.	—
Controle	0,002	—	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
	—	0,1	0,1	0,002	5	f. compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
	—	0,08	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.	—
	—	0,05	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.	—

Vor der 1. Injection betrug der Titer also 0,06, nach der 3. Injection 0,04, nach der 4. Injection 0,05 und nach der 5. Injection war er höher als 0,1. In diesem Versuch tritt übrigens besonders deutlich die Abschwächung der aufbewahrten Sera hervor, indem dasselbe Serum am 8. 3. den doppelten Titer als am 13. 3. hatte.

Versuch 6.

Glykogen-Kaninchen No. 6. (Normalserum No. XIII.)

21. 2. 1. Injection: 0,1 g Glykogen subcut. Normalserum XIII. Titer: 21. 2. 0,06;
9. 3. >0,1.
26. 2. 2. " 0,2 g " " 7. 3. Serum entnommen.
2. 3. 3. " 0,2 g " " Titer: 9. 3. 0,06 (?); 13. 3. 0,06.
7. 3. 4. " 0,3 g " " 13. 3. Serum entnommen.
Titer: 13. 3. 0,03.
14. 3. 5. " 0,35 g " " 5. 4. Serum entnommen.
Titer: 7. 4. 0,08.

Glykogen	Antiglykogen	Complement	Hämolytisches Serum	Blut pCt.	Vor der 1. Injection		Nach der 3. Injection		Nach der 4. Injection	Nach der 5. Injection
					Prüfung am		Prüfung am		Prüfung	Prüfung
					21. 2.	9. 3.	9. 3.	13. 3.	am 13. 3.	am 7. 4.
0,002	0,1	0,1	0,002	5	Kuppe	compl.	Kuppe	0, l. H.	0	incompl.
0,002	0,09	0,1	0,002	5	kl. Kuppe	compl.	—	—	0	—
0,002	0,08	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	f. compl.	Kuppe	0	f. compl.
0,002	0,07	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	—	—	0	—
0,002	0,06	0,1	0,002	5	incompl.	compl.	spurweise Hemmung	kl. Kuppe	0, l. H.	compl.
0,002	0,05	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	—	Kuppe	compl.
0,002	0,04	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	—	kl. Kuppe	compl.
0,002	0,03	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	—	f. compl.	compl.
0,002	0,02	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	—	compl.	compl.
0,002	0,01	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	—	compl.	compl.
Controllen	0,002	—	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
	—	0,1	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
	—	0,08	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
	—	0,05	0,002	5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.

Vor der 1. Injection bestand ein Titer von 0,06; nach der 3. Injection blieb dieser Titer unverändert, nach der 4. Injection fand ein Ansteigen auf 0,03 statt und nach der 5. Injection fiel der Titer auf 0,08.

In nachstehender Tabelle fassen wir die Resultate von an 22 Kaninchen ausgeführten Serumtitrationen zusammen, von denen 15 Kaninchen normal und 7 mit Glykogen Merck vorbehandelt waren. Zur Erklärung der Tabelle sei bemerkt, dass wir mit einem + den Titer der unvorbehandelten und mit einem × den Titer der mit Glykogen vorbehandelten Thiere bezeichnen.

Serum- ver- dünnung	Normalsera															Immunsera						
	1.	2.	3.	4.	5.	7.	9.	11.	12.	Anti- pept.	A.	B.	Malt.	13	8.	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
0,02																	×					
0,03																					×	
0,04																×				×		×
0,05																			×			
0,06		+							+					+	+			×				
0,07																						
0,08			+																			
0,09				+	+		+	+					+									
0,10				+	+		+				+	+	+									
0,12	+					+				+	+	+										
0,16																						
0,20																						

Aus dieser Tabelle ergibt sich, dass von 15 normalen Kaninchen-seris unter den bei unseren Versuchen vorhandenen Bedingungen kein einziges einen Titer von 0,05 oder weniger hatte, während von 7 Immun-seris 6 0,05 und weniger hatten.

Wenn wir dieses auch keineswegs als einen zwingenden Beweis für das Vorhandensein einer immunisatorischen Steigerung der normal vorhandenen bindenden Gruppen gegen Glykogen Merck auffassen können, so müssen wir doch sagen, dass der Ausfall der Versuche sehr dafür spricht. Sicherlich ist das Ansteigen des Titers nur sehr gering. Sehr bemerkenswerth ist ferner das fast stets beobachtete Zurückgehen des Titers nach

weiteren Injectionen, ein Phänomen, das nicht vereinzelt dasteht, sondern das bisher bei allen Immunisirungsversuchen mit Substanzen, die im Organismus eine physiologische Rolle spielen (Fermenten, Eiweiss-substanzen) beobachtet und bereits von Ehrlich mit dem Ausdruck der „gemellen“ Immunität eingehend gewürdigt worden ist. Da das Glycogen, puriss. nicht absolut rein war, sondern Spuren von Stickstoff enthielt, so entstand für uns die weitere Frage, ob die von uns beobachteten Erscheinungen auch für andere Glykogen-Präparate zutreffen würden, die keinen Stickstoff mehr enthielten. Als solches stand uns zunächst ein von Grübler bezogenes Glycogen, puriss. zur Verfügung, über dessen Herstellungsweise wir gleichfalls nichts aussagen können.

Wir immunisirten 2 Kaninchen mit diesem Glykogen und ein 3. Thier zum Vergleich mit Glykogen Merck. Am gleichen Tage entzogen wir dann allen 3 Thieren Serum und prüften dieses sowohl in seiner Wirkung auf das Grübler'sche als auch auf das Merck'sche Präparat. Hierbei zeigte sich, dass alle 3 Sera die nicht mehr bindende Dosis von 0,005 g Glykogen Grübler und 0,002 g Glykogen Merck zur bindenden Dosis umzugestalten vermochten. Diese Einwirkung lag jedoch innerhalb der normalen Grenzen, bei den durch Injection des Grübler'schen Präparates gewonnenen Seren, während das mit dem N-haltigen Glykogen erzeugte Serum eine deutlich höhere Beeinflussung des Bindungsvermögens zeigte. Der Titer war für das homologe Präparat 0,04 cem und betrug für das Grübler'sche Präparat 0,06 cem, wie sich aus dem folgenden Protokoll ergibt.

Dieses Resultat berechtigt zu der Vermuthung, dass der N-Gehalt unseres Präparates für die immunisatorische Steigerung der glykogen-bindenden Gruppen des Serums nicht ohne Einfluss ist, andererseits spricht der Umstand, dass das mit dem Merck'schen Präparat gewonnene Serum auch deutlich stärker als die anderen Sera auf das N-freie Glykogen Grübler wirkte, dafür, dass es sich nicht etwa um Antikörper gegen die N-haltige Verunreinigung des Glykogen Merck handelt, sondern vielmehr um glykogenbindende Substanzen.

Versuch 7.

Kaninchen VIII.		Kaninchen IX.	
31. 3.	0,1 g Glykogen Grübler subcut.	31. 3.	0,1 g
5. 4.	0,2 g " " "	5. 4.	0,2 g
10. 4.	0,3 g " " "	10. 4.	0,3 g
15. 4.	Serum entnommen (I).	15. 4.	Serum entzogen (II).
19. 4.	0,3 g Glykogen subcut.	29. 4.	†.

Kaninchen VII.	
21. 3.	0,1 g
26. 3.	0,2 g
31. 3.	0,3 g
9. 4.	0,4 g
15. 4.	Serum entzogen.
23. 4.	†.

17. 4. Prüfung der 3 Sera gegen Glykogen Merck und Glykogen Grübler.

Glykogen Grübler	Anti-Grübler- Glykogen I.	Anti-Grübler- Glykogen II.	Anti-Merck- Glykogen
0,005	0,1 in compl.	0,1 in compl.	0,1 in compl.
0,005	0,08 compl.	0,08 compl.	0,08 in compl.
0,005	0,06 compl.	0,06 compl.	0,06 in compl.
0,005	0,04 compl.	0,04 compl.	0,04 compl.
0,005 compl.	—	—	—
—	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.
Glykogen Merck			
0,002	0,1 kl. Kuppe	0,1 in compl.	0,1 Kuppe
0,002	0,08 kl. Kuppe	0,08 f. compl.	0,08 Kuppe
0,002	0,06 in compl.	0,06 compl.	0,06 Kuppe
0,002	0,04 compl.	0,04 compl.	0,04 f. compl.
0,002	0,02 compl.	0,02 compl.	0,02 compl.
0,002 compl.	—	—	—

Ausser dem Grübler'schen Glykogen wurde noch ein von Herrn Dr. Seligmann nach der neuesten Pflüger'schen Methode hergestelltes Hundeglykogen von uns einige Mal untersucht. Auch dieses Präparat war frei von N-haltigen Verunreinigungen.

Versuch 8.

18. 4. Hundeglykogen. (Frei von N-Beimengung.) Nach Pflüger'scher Methode von Seligmann hergestellt.

Hundeglykogen	Normalserum I	Normalserum II
0,01	0,2 Spur Hemmung	0,2 kl. Kuppe
0,006	0,2 Spur Hemmung	0,2 kl. Kuppe
0,01	0,1 compl.	0,1 compl.
0,006	0,1 compl.	0,1 compl.
0,01 compl.	—	—
0,006 compl.	—	—
—	0,2 compl.	0,2 compl.
—	0,1 compl.	0,1 compl.

Hämolyisin 1 : 1000.

Complement von Meerschweinchen 1 : 10.

Versuch 9. (6. 6.)

Hundeglykogen	Normalserum	Complement	Hämolyisin	Hammelblut
0,05	—	0,1	1 : 1500	1 ccm 5 pCt. Kuppe
0,04	—	0,1	1 : 1500	1 „ 5 „ Kuppe
0,03	—	0,1	1 : 1500	1 „ 5 „ Kuppe
0,02	—	0,1	1 : 1500	1 „ 5 „ Kuppe
0,01	—	0,1	1 : 1500	1 „ 5 „ f. compl.
0,008	—	0,1	1 : 1500	1 „ 5 „ compl.
0,006	—	0,1	1 : 1500	1 „ 5 „ compl.

Hundeglykogen	Normalserum	Complement	Hämolysin	Hammelblut	
0,008	0,2	0,1	1 : 1500	1 ccm 5 pCt.	Kuppe
0,008	0,15	0,1	1 : 1500	1 " 5 "	incompl.
0,008	0,1	0,1	1 : 1500	1 " 5 "	incompl.
0,008	0,08	0,1	1 : 1500	1 " 5 "	compl.
—	0,4	0,1	1 : 1500	1 " 5 "	compl.
—	0,2	0,1	1 : 1500	1 " 5 "	compl.
—	0,1	0,1	1 : 1500	1 " 5 "	compl.

Bei der Vorbehandlung von Kaninchen mit dem Hundeglykogen konnte keine immunisatorische Steigerung festgestellt werden, dagegen gelang der Nachweis, dass die bindende Kraft dieses Glykogens durch Zusatz von normalem Serum gesteigert wird, es ist also diese Eigenschaft sicher nicht vom N-Gehalt abhängig, während die immunisatorische Steigerung vielleicht durch die N-Verunreinigung begünstigt wird. Wir enthalten uns aller Vermuthungen, worauf diese Wirkung des N beruhen könnte, da die Thatsache selbst uns noch keineswegs sicher gestellt zu sein scheint, vielmehr die Möglichkeit vorliegt, dass die bei der Herstellung der verschiedenen Glykogenpräparate angewandten Methoden, biologisch nicht gleichwerthige Präparate erzeugen. Ja selbst bei dem gleichen Herstellungsmodus scheinen die Schwierigkeiten, gleichmässige Präparate herzustellen, bedeutend zu sein. Hieran scheiterten unsere Versuche, Glykogene von verschiedenen Thierarten (Hund, Katze, Kaninchen und Pferd) miteinander durch die biologische Methode zu differenciren, indem die einzelnen Präparate sich in so vielfacher Weise (Löslichkeit, specifisches Gewicht, Complementbindungsvermögen) von einander unterschieden, dass wir von weiteren Versuchen Abstand nahmen.

Ziehen wir den Schluss, so ergibt sich, dass der Zusatz von normalem Serum zu einer nicht bindenden Dosis Glykogen regelmässig, auch bei ganz N-freien Präparaten das Phänomen der Complementbindung eintreten lässt. Summirungseffecte zweier an sich unterhemmender Dosen sind dabei nicht anzunehmen, daraus folgt, dass wir im normalen Serum bindende Substanzen für Glykogen annehmen dürfen. Der Gehalt dieser Substanz schwankt zeitlich und individuell. Die Möglichkeit einer immunisatorischen Steigerung dieser Substanzen ergibt sich aus unseren Versuchen mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit, aber nicht mit zwingender Sicherheit. Sollte die Steigerung überhaupt möglich sein, dann wird derselben durch physiologische Regulationsvorrichtungen bald ein Ende gesetzt. Es macht auf uns den Eindruck, dass der Organismus mit grosser Zähigkeit sich der Störungen des Mengenverhältnisses bei diesen Substanzen widersetzt.

Albumosen und Peptone.

Bei dem Studium der Albumosen und Peptone trat die Schwierigkeit, ja Unmöglichkeit, gleichmässige Präparate zu erhalten noch mehr in Erscheinung als beim Glykogen. Wir können deshalb nicht dringend genug betonen, dass fast alle in den folgenden Versuchen gefundenen

Resultate keine allgemeine Giltigkeit haben dürften, dass es vielmehr sehr wohl möglich ist, dass andere Untersucher bezüglich der von uns geprüften Präparate, insbesondere des Wittepeptons und der Hemialbumose, abweichende Ergebnisse haben können. Die Schuld an dieser Inconstanz liegt nicht so sehr in der von uns gewählten Methodik, als vielmehr an der Unmöglichkeit, den peptischen Verdauungsprocess einheitlich zu gestalten und gerade stets in dem gewollten Moment zu unterbrechen.

Wir haben uns deshalb bemüht, für alle unsere Versuche möglichst stets eine einzige Probe eines Präparates zu benutzen, um Schwankungen soweit als angängig auszuschalten. Das erste Präparat, das wir in Untersuchung zogen, war das sogenannte „Wittepepton“, das nach Salkowski und Leube (Die Lehre vom Harn. Berlin 1882. S. 211) ein Gemisch von Hemialbumose und Pepton darstellt, in dem die Albumosen überwiegen.

Mit Wittepepton, das, wie schon Wendelstadt zeigen konnte, Complement zu binden vermag, wurden mehrere Kaninchen in der aus den Protokollen ersichtlichen Weise zu immunisiren versucht, nachdem sich gezeigt hatte, dass ganz entsprechend den bei Glykogen gemachten Erfahrungen der Zusatz von inactivem normalem Serum nicht mehr Complement bindende Mengen Wittepepton dazu befähigte.

Versuch 10.

Pepton-Kaninchen No. 1. R. Hinterfuss.

1. Injection 22. 1. 06 5 cem 10 pCt. Witte-Pepton subcut.

2.	"	29. 1. 06	5	"	10	"	"	"	"	
3.	"	3. 2. 06	5	"	10	"	"	"	"	
4.	"	9. 2. 06	10	"	20	"	"	"	"	17. 2. Serum entnommen.
5.	"	17. 2. 06	15	"	20	"	"	"	"	23. 1. " "
6.	"	23. 2. 06	20	"	20	"	"	"	"	1. 3. " "
7.	"	1. 3. 06	20	"	20	"	"	"	"	8. 3. " "
8.	"	10. 3. 06	25	"	20	"	"	"	"	17. 3. " "

Witte-Pepton	Antipepton I	Complement	Hämolytisches Serum	Blut pCt.	Nach der 4. Inject.		Nach der 5. Inject.	Nach der 6. Inject.	Nach der 7. Inject.
					Prüfung am		Prüfung am	Prüfung am	Prüfung am
					19. 2.	24. 2.	24. 2.	3. 3.	9. 3.
0,005	0,1	0,1	0,002	1 cem 5	0	—	—	0	—
0,005	0,08	0,1	0,002	1 " 5	0	—	—	—	—
0,005	0,05	0,1	0,002	1 " 5	0	Kuppe	gr. Kuppe	0	0, 1. H.
0,005	0,03	0,1	0,002	1 " 5	—	Kuppe	Kuppe	0	Kuppe
0,005	0,01	0,1	0,002	1 " 5	Kuppe	f. compl.	kl. Kuppe	0, 1. H.	compl.
0,005	0,008	0,1	0,002	1 " 5	—	compl.	f. compl.	incompl.	compl.
0,005	0,005	0,1	0,002	1 " 5	kl. Kuppe	compl.	f. compl.	compl.	compl.
0,005	0,001	0,1	0,002	1 " 5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
—	0,1	0,1	0,002	1 " 5	Kuppe	—	—	compl.	compl.
—	0,08	0,1	0,002	1 " 5	—	—	—	compl.	compl.
—	0,05	0,1	0,002	1 " 5	incompl.	incompl.	f. compl.	compl.	compl.
—	0,03	0,1	0,002	1 " 5	—	compl.	compl.	compl.	compl.
—	0,01	0,1	0,002	1 " 5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,005	—	0,1	0,002	1 " 5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.

Das Ergebniss dieses 1. Versuches ist ein unsicheres bezüglich der Frage der immunisatorischen Beeinflussung durch die Injectionen, dagegen ergibt sich die charakteristische Beeinflussung des Complementbindungsvermögens des Wittepeptons durch Serum sehr deutlich. Auffallend ist, dass auch hier sich wie bei den Glykogenversuchen ein scheinbares Ansteigen und Abfallen der Amboceptorcurve im Verlaufe der Behandlung zeigt.

Versuch 11.

Pepton-Kaninchen No. 2. L. Hinterfuss. (Normalserum No. I.)

1. Injection 17. 2. 06 1 g Witte-Pepton subcut.
2. " 23. 2. 06 2 g " " " 1. 3. Serum entnommen.
3. " 1. 3. 06 3 g " " " 8. 3. " "
4. " 10. 3. 06 4 g " " " 17. 3. " "

Witte-Pepton	Antipepton II	Complement	Hämolytisches Serum	Hammel-Blut pCt.	Vor der 1. Inject.		Nach der 2. Inject.		Nach der 3. Inject.
					Prüfung am		Prüfung am		Prüfung am
					19. 2.	3. 3.	3. 3.	9. 3.	9. 3.
0,005	0,1	0,1	0,002	1 cem 5	0	compl.	0	—	0
0,005	0,08	0,1	0,002	1 " 5	—	compl.	0	Kuppe	0
0,005	0,05	0,1	0,002	1 " 5	0, 1. H.	compl.	Kuppe	Kuppe	0. 1. H.
0,005	0,03	0,1	0,002	1 " 5	—	compl.	compl.	compl.	Kuppe
0,005	0,01	0,1	0,002	1 " 5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,005	0,008	0,1	0,002	1 " 5	—	—	compl.	compl.	compl.
0,005	0,006	0,1	0,002	1 " 5	—	—	compl.	compl.	compl.
0,005	0,005	0,1	0,002	1 " 5	compl.	—	compl.	—	compl.
0,005	0,004	0,1	0,002	1 " 5	—	—	compl.	—	compl.
0,005	0,003	0,1	0,002	1 " 5	—	—	compl.	—	compl.
0,005	0,001	0,1	0,002	1 " 5	compl.	—	compl.	—	compl.
0,005	0,0008	0,1	0,002	1 " 5	—	—	compl.	—	compl.
0,005	0,0005	0,1	0,002	1 " 5	compl.	—	compl.	—	compl.
—	0,1	0,1	0,002	1 " 5	incompl.	compl.	compl.	compl.	compl.
—	0,08	0,1	0,002	1 " 5	—	compl.	compl.	compl.	compl.
—	0,05	0,1	0,002	1 " 5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
—	0,03	0,1	0,002	1 " 5	—	compl.	compl.	compl.	compl.
—	0,01	0,1	0,002	1 " 5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,005	—	0,1	0,002	1 " 5	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.

Dieser Versuch, bei dem das Serum vor der 1. Injection geprüft wurde, scheint, wenn man die am gleichen Tage gemachten Untersuchungen (3. 3. und 9. 3.) mit einander vergleicht, für die immunisatorische Steigerung zu sprechen.

Unsere Anschauung, dass beim Wittepepton eine immunisatorische Bildung von Amboceptoren statthat, erfährt eine weitere Stütze durch den folgenden Versuch, der zum Unterschiede von dem vorherigen mit einer constanten Serummenge und abfallenden Mengen Antigen angestellt wurde.

Das in diesem Versuch verwendete „Antiwittepepton“-Serum entstammt dem Kaninchen I, das zur Zeit bereits die 7. Injection erhalten hatte. Zur Controlle diente ein frisch entzogenes Normalserum. Alles übrige ergibt sich aus dem Versuch selbst.

Versuch 12.

9. 3. 06 Serum	Pepton-Witte	Complement	Hämolysisches Serum	Hammel-Blut	Normal- Serum	Antipepton I vom 8. 3. (7. Injection)
0,1	0,1	0,1	0,002	5 pCt.	0	0
0,1	0,05	0,1	0,002	5 pCt.	0	0
0,1	0,01	0,1	0,002	5 pCt.	Kuppe	0
0,1	0,005	0,1	0,002	5 pCt.	incompl.	0
0,1	0,001	0,1	0,002	5 pCt.	compl.	f. compl.
0,1	0,0005	0,1	0,002	5 pCt.	compl.	f. compl.
0,1	0,0005	0,1	0,002	5 pCt.	compl.	compl.
—	0,1	0,1	0,002	5 pCt.	Kuppe	Kuppe
—	0,05	0,1	0,002	5 pCt.	incompl.	incompl.
—	0,01	0,1	0,002	5 pCt.	compl.	compl.
—	0,005	0,1	0,002	5 pCt.	compl.	compl.
0,1	—	0,1	0,002	5 pCt.	compl.	compl.

Wie sehr die Reaktionsschärfe der biologischen Methode davon abhängig ist, ob man mit constanter Serummenge oder constanter Antigenmenge arbeitet, zeigt der folgende Versuch, der mit einem Rinderserum präcipitirenden Kaninchen-Immunserum und Rinderserum angestellt wurde. Leider wurde dieser Versuch erst gegen Schluss unserer Untersuchungen unternommen, sodass wir dieses bemerkenswerthe Resultat nur bei einem Theile unserer Experimente noch verwenden konnten.

Versuch 13

zur Entscheidung der Frage, ob die Verminderung des Antigens oder des Antiserums für die Versuchsanordnung empfehlenswerther ist.

Rinderserum, präcip. Kaninchenserum			Rinder- serum	Complement	Hämolysin 1 cem	Hammelblut	
Controle	I.	0,2	—	0,1	1:1500	1 cem 5 pCt.	f. compl.
"	II.	0,1	—	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
"	III.	0,05	—	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
"	IV.	0,01	—	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
		0,2	0,1	0,1	1:1500	1 " 5 "	0
		0,1	0,1	0,1	1:1500	1 " 5 "	0
		0,05	0,1	0,1	1:1500	1 " 5 "	gr. Kuppe
		0,01	0,1	0,1	1:1500	1 " 5 "	f. compl.
Controle	V.	—	0,1	0,1	1:1500	1 " 5 "	f. compl.
		0,1	0,01	0,1	1:1500	1 " 5 "	0
		0,05	0,01	0,1	1:1500	1 " 5 "	fast 0
		0,01	0,01	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
Controle	VI.	—	0,01	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
		0,1	0,001	0,1	1:1500	1 " 5 "	fast 0
		0,05	0,001	0,1	1:1500	1 " 5 "	Kuppe
		0,01	0,001	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
Controle	VII.	—	0,001	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
		0,1	0,0001	0,1	1:1500	1 " 5 "	gr. Kuppe
		0,05	0,0001	0,1	1:1500	1 " 5 "	incompl.
		0,01	0,0001	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
Controle	VIII.	—	0,0001	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
Controle	IX.	—	0,1	—	1:1500	1 " 5 "	0
"	X.	—	0,01	—	1:1500	1 " 5 "	0
"	XI.	0,2	—	0,1	—	1 " 5 "	0
"	XII.	0,1	—	0,1	—	1 " 5 "	0
"	XIII.	—	—	0,1	—	1 " 5 "	0
"	XIV.	—	—	0,1	1:1500	1 " 5 "	compl.
"	XV.	—	—	—	1:1500	1 " 5 "	0
"	XVI.	—	—	—	—	1 " 5 "	0

Ergebniss: Bei Anti-Eiweissserum giebt eine Verminderung des Antigens ein besseres Resultat als eine Abstufung des Antiserums. Denn bei gleichbleibenden Mengen Antiserum 0,1 oder 0,05 und abfallenden Mengen Antigens (Rindereiweiss) giebt 0,0001 noch Ausschlag, während bei abfallenden Mengen Antiserums bereits 0,01 Antigen keine Reaction mehr giebt.

Da genau genommen nur die Resultate desselben Tages quantitativ vergleichbar sind, so geben wir hier eine nach diesem Gesichtspunkt zusammengestellte Tabelle der mit Wittepepton angestellten Versuche. Es ergiebt sich daraus mit Sicherheit, dass gegen Wittepepton Immunamboceptoren bestehen. Zum Verständniss der Tabelle sei bemerkt, dass die römischen Zahlen die Nummer des Thieres bezeichnen, während die arabischen Ziffern die Zahl der Injectionen anzeigen. Die Kreuze bezeichnen den Titer des Serums.

Versuch 14.

Wittepepton	Serummenge	19. 2. 1906		24. 2. 1906			3. 3. 1906			9. 3. 1906	
		Normalserum X	Anti-Wittepepton I 4	Normalserum XX	Anti-Wittepepton I 4	Anti-Wittepepton I 5	Normalserum X	Anti-Wittepepton I 6	Anti-Wittepepton II 2	Anti-Wittepepton II 2	Anti-Wittepepton II 3
0,005 (für sich allein nicht hemmend)	0,001 ccm										
desgl.	0,005 "		×			×					
desgl.	0,008 "							×			
desgl.	0,01 "			×	×						
desgl.	0,03 "										
desgl.	0,05 "	×							×	×	×
desgl.	0,08 "										
desgl.	0,1 "						×				

Aus der obigen Tabelle ergibt sich folgendes: Am gleichen Tage, d. h. unter genau den gleichen Bedingungen geprüft, hatte ein Normalserum von Kaninchen X den Titer 0,05, ein Serum von Kaninchen I, das mit Wittepepton viermal subcutan injicirt wurde (je 10 ccm 10 proc. Peptonlösung) Titer 0,005. — Am 24. 2. hatte das aufbewahrte Serum von Kaninchen I mit neuem hämolytischen System Titer 0,01, ein frisches Normalserum (XX) denselben Titer, das Serum des Kaninchen I, das inzwischen neue Injection erhalten hatte (subcutan) 5 mg, also wieder höher als die Vergleichssera. — Auch bei der Prüfung am 3. 3. 1906 sind die Sera der vorbehandelten Thiere die höchst wirksamen, ebenso sieht man am 9. 3. 1906 einen steigenden Einfluss der Vorbehandlung auf den Titer des Serums.

Versuch 15.

22. 3. 06. Prüfung des Serums der mit Wittepepton vorbehandelten Kaninchen gegen verschiedene unerhitzte und $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° in der Verdünnung von 1:10 erhitze normale Sera — die normalen Sera dienen in diesem Versuche als Eiweiss-Antigen. — Hämolytisches System 1:2800 (= 2 × lösender Dosis).

Anti-Wittepepton I vom 17. 3.	Pferdeserum		Rinderserum		Schweineserum	
	unerhitzt	erhitzt	unerhitzt	erhitzt	unerhitzt	erhitzt
1. 0,1 ccm	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 in compl.	0,1 kl. Kuppe
2. 0,1 "	0,05 "	0,05 "	0,05 "	0,05 "	0,05 "	0,05 "
3. 0,1 "	0,01 "	0,01 "	0,01 "	0,01 "	0,01 "	0,01 "
4. 0,1 "	0,005 "	0,005 "	0,005 "	0,005 "	0,005 "	0,005 "
5. 0,1 "	0,001 "	0,001 "	0,001 "	0,001 "	0,001 "	0,001 —
C o n t r o l e n						
I. 0,1 compl.	—	—	—	—	—	—
—	II. 1) 0,1 gr. Kuppe	V. compl.	VIII. compl.	XI. compl.	XIV. compl.	XVII. compl.
—	III. 1) 0,05 Kuppe	VI. "	IX. "	XII. "	XV. "	XVIII. "
—	IV. 1) 0,01 compl.	VII. "	X. "	XIII. "	XVI. "	XIX. "

1) Wir registriren hier das Phänomen, dass altes actives Serum vom Pferde und wie wir später sehen werden auch von anderen Thieren, selbst anticomplementär zu wirken vermag, und dass diese Wirkung durch Zusatz von inactivem Normal-Kaninchenserum sowie durch Erhitzen aufgehoben werden kann.

Nachdem sich also ergeben hatte, dass wir in unserer Probe Wittepepton ein echtes Antigen hatten, entstand für uns die weitere Frage, ob die von uns festgestellten Anti-Wittepepton-Amboceptoren auch auf native oder erhitzte Eiweissstoffe wirksam waren und auf welche. Das vorstehende Protokoll gab uns darauf die Antwort.

Unser Anti-Wittepepton war also nur auf Schweineeiweiss wirksam und zwar auf erhitztes stärker als auf unerhitztes. Dies legte vor Allem den Gedanken nahe, dass zur Bereitung unseres Wittepeptons Schweineeiweiss als Ausgangsmaterial gedient hatte, und dass vielleicht sich in unserem Wittepepton auch noch natives oder nur wenig verändertes Schweineeiweiss befand, so dass sich nicht gegen die Hemialbumosen und Peptone, sondern vielmehr nur gegen die Eiweissverunreinigungen Antikörper gebildet hätten. Es wurde deshalb der folgende Versuch unternommen, der eine quantitative Prüfung des Anti-Wittepeptons gegen Wittepepton und Schweineeiweiss (Serum) darstellt. Hämolytisches System 1:2800 (= 2 × lösende Dosis).

Versuch 16 (23. 3. 1906).

Anti-Wittepepton II vom 17. 3.		Schweineserum		Wittepepton	
1.	0,1 ccm	0,1 ccm	Kuppe	0,1 ccm	0
2.	0,1 "	0,01 "	Kuppe	0,01 "	0
3.	0,1 "	0,001 "	kl. Kuppe	0,001 "	0
4.	0,1 "	0,0005 "	incomplet	0,0005 "	Kuppe
5.	0,1 "	0,0001 "	complet	0,0001 "	incomplet
6.	0,1 "	0,00005 "	complet	0,00005 "	incomplet
7.	0,1 "	0,00001 "	complet	0,00001 "	incomplet
8.	0,1 "	0,000005 "	complet	0,000005 "	complet

Es zeigte sich deutlich, dass der Einfluss auf das Wittepepton ein weit stärkerer als auf das Schweineserum war, wobei freilich folgendes zu berücksichtigen ist. Wir haben das Wittepepton in fester Substanz und das Serum in flüssiger Substanz abgemessen. Nun entspricht aber 1 ccm flüssiges Serum nur 0,1 g Trockenserum. Es ist also folgende Correctur zu machen: Für Schweineserum (Trockensubstanz) ist der corrigirte Titer 0,00005 g, für Wittepepton 0,00001 g. Dieser Unterschied wäre an und für sich zu gering, um Schlüsse zu erlauben. Nun kommt aber folgendes hinzu: Das Wittepepton enthält sicherlich zum grössten Theile Albumosen und Peptone und kann höchstens geringe Mengen Eiweiss enthalten, es müsste also der Titer für Wittepepton deutlich geringer als für Serum sein, während er in Wirklichkeit hier noch fünfmal so stark ist. Hiermit ist erwiesen, dass bei Pepsinverdauung Stadien auftreten, bei denen die „originäre Gruppierung“ noch erhalten ist, die „constitutive Gruppe“ sich aber geändert hat, dass also der erste Angriffspunkt der peptischen Verdauung die constitutive Gruppe ist, ebenso wie das bei der tryptischen Verdauung nach Obermeyer und Pick der Fall ist.

Nur kurz wollen wir zum Schluss dieses Abschnittes darauf hinweisen, dass die von uns beim Wittepepton erhobenen Befunde mit den Angaben einiger anderer Autoren, die mit der Präcipitirmethode gearbeitet haben, übereinstimmen.

So hat Walter Myers gegen Wittepepton spezifische Präcipitine erzeugt, die freilich insofern ein abnormes Verhalten zeigten, als sie bei 56° inactivirt und durch Zusatz von Normalserum reactivirt wurden.

Wenngleich diese Angaben von Myers keine directen Bestätigungen gefunden haben, so ist der Vorgang der Präcipitation selbst doch auch von Schütze (21), Sacconaghi (7) und Moll (20) beobachtet worden.

Hemialbumose.

Das nächste Präparat, das wir untersuchten, war eine uns von Gröbler gelieferte Hemialbumose, welche nach dem von Kühne und Chittenden in der Zeitschrift für Biologie 1884 angegebenen Verfahren aus Rindereweiss hergestellt wurde.

Chemisch handelte es sich um ein wohl charakterisirtes Albumosepräparat, das sich relativ leicht in physiologischer Kochsalzlösung löste. Die Prüfung auf Complementbindungsfähigkeit ergab ein positives Verhalten der Hemialbumose. Ebenso liess sich die Steigerung der Bindungsfähigkeit durch inactives Normalserum auch hier leicht feststellen. Schwieriger gestaltete sich die Frage der immunisatorischen Steigerung.

Die auffallende Thatsache jedoch, dass bei allen Vergleichen, die mit Normal- oder Anti-Wittepeptonserum einerseits und Antihemialbumosen-serum andererseits angestellt wurden, ein stärkerer Einfluss des letzteren auf die Bindungsfähigkeit der Hemialbumose constatirt werden konnte, macht es wahrscheinlich, dass auch hier eine spezifische Antikörperbindung stattgefunden hat, wenngleich ein strikter Beweis nicht vorliegt.

Versuch 17.

Serumver- dünnungen	Hemi- albumose	Com- plement	Hämo- lytisches System	Blut pCt.	Normal- serum (Stärke)	Antihemi- albumose
0,1	0,1	0,1	0,002	1 cem 5	0	0
0,1	0,05	0,1	0,002	1 „ 5	Kuppe	0, 1. H.
0,1	0,01	0,1	0,002	1 „ 5	incomplet	Kuppe
0,1	0,005	0,1	0,002	1 „ 5	complet	incomplet
0,1	0,001	0,1	0,002	1 „ 5	complet	complet
0,1	0,0005	0,1	0,002	1 „ 5	complet	complet
Controle	—	0,1	0,002	1 „ 5	0	0
	—	0,05	0,002	1 „ 5	incomplet	incomplet
	—	0,01	0,002	1 „ 5	complet	complet
	0,1	—	0,1	0,002	1 „ 5	complet

Also Immunserum höher als normales Serum.

Versuch 18.

21. 3. 06. Prüfung von normalem Kaninchenserum, Anti-Wittepepton und Antihemialbumose gegen Hemialbumose und Wittepepton. — Hämolytisches System vom Titer 1:5600; also doppelt lösende Dosis $\frac{1}{2800}$.

a) Hemialbumose.

Hemialbumose	Normalserum	Anti-Wittepepton H. I. vom 17. 3.	Anti-Hemialbumose (4. Inject.) vom 17. 3.	• Anti-Wittepepton II. vom 17. 3.
	0,1 cem	0,1 cem	0,1 cem	0,1 cem
1. 0,00001	compl. Hämol.	compl. Hämol.	Kuppe	compl. Hämol.
2. 0,00005	compl. Hämol.	compl. Hämol.	Kuppe	compl. Hämol.
3. 0,0001	compl. Hämol.	compl. Hämol.	Kuppe	compl. Hämol.
4. 0,0005	f. compl. Hämol.	compl. Hämol.	Kuppe	compl. Hämol.
5. 0,001	Kuppe	Kuppe	Kuppe	compl. Hämol.
6. 0,003	Kuppe	gr. Kuppe	gr. Kuppe	f. compl. Hämol.
7. 0,005	Kuppe	fast 0	0	gr. Kuppe
8. 0,01	gr. Kuppe	0	0	gr. Kuppe
9. 0,05	0	0	0	—

Controlen.

I. 0,005 empl.	—	—	—	—
II. 0,01 empl.	—	—	—	—
III. 0,05 0	—	—	—	—
—	IV. 0,1 compl.	V. 0,1 compl.	VI. 0,1 compl.	VII. 0,1 compl.

b) Wittepepton.

Wittepepton	Normalserum	Antihemialbumose (4. Inject.) vom 17. 3.	Anti-Wittepepton II. vom 17. 3.
	0,1 cem	0,1 cem	0,1 cem
1. 0,00005	compl. Hämol.	compl. Hämol.	compl. Hämol.
2. 0,0001	compl. Hämol.	compl. Hämol.	compl. Hämol.
3. 0,0005	compl. Hämol.	compl. Hämol.	Kuppe
4. 0,001	nicht gemacht	nicht gemacht	gr. Kuppe
5. 0,005	nicht gemacht	nicht gemacht	0

Controlen.

I. 0,001 compl.	—	—	—
II. 0,005 compl.	—	—	—
—	III. 0,1 compl.	IV. 0,1 compl.	V. 0,1 compl.

Aus der vorstehenden Tabelle ist zu ersehen, dass das Serum eines mit Hemialbumose vorbehandelten Kaninchens am stärksten auf dieses Präparat, dasjenige eines mit Wittepepton vorbehandelten Thieres dagegen am intensivsten auf Pepton Witte wirkt. — Da im Wittepepton Hemialbumosen enthalten sind, so spricht der Ausfall dieser Versuche dafür, dass zwischen diesen beiden Hemialbumosenpräparaten Unterschiede bestehen müssen. — Mit grösster Wahrscheinlichkeit beruhen diese auf der Verwendung verschiedenen Thiereiweisses als Ausgangsmaterial für die Herstellung der Präparate. Wie oben erwähnt, giebt unser Anti-Wittepepton Reaction auf Schweineeiweisse, dagegen diente,

laut brieflicher Nachricht, für die Grüber'sche Hemialbumose Rinder-eiweiss als Ausgangsmaterial. — Es spricht also auch dieser Versuch dafür, dass das, was wir Hemialbumose nennen, noch nicht völlig ent-specificirt sein muss.

Pepton Chapoteaut.

Während die beiden zuerst untersuchten Präparate, das Wittepepton und die Hemialbumose Grüber noch als echte Antigene zu wirken vermögen, indem sie nicht nur im normalen Serum bindende Gruppen finden, sondern auch auf dem Wege der Immunisirung die Zahl derselben steigern können, zeigte das in Folgendem zu besprechende Präparat ein Verhalten, dessen richtige Beurtheilung schwieriger ist; wir werden uns deshalb im wesentlichen darauf beschränken, die charakteristischsten Protokolle hier wiederzugeben und die Schlüsse, die daraus gezogen werden können, daran anzuschliessen.

Das bekannte französische Präparat Pepton Chapoteaut, das ebenso wie das Wittepepton thatsächlich ein Gemisch von Albumosen und Peptonen darstellt, ist sehr gut löslich. Es wird nach den Angaben der Fabrik aus Rindermuskeleiweiss hergestellt. Es wurde von uns in der Weise benutzt, dass wir Kaninchen hiermit vorbehandelten und dann das gewonnene Immunserum zusammen mit einem Vergleichsserum prüften.

Versuch 19.

Serum	Pepton (Chapoteaut)	Comple- ment	Hämo- lysin	Blut 1 ccm	Normalserum (Stärke)	Antipepton Ch. I.
0,1	0,1	0,1	0,002	5 pCt.	0	0
0,1	0,08	0,1	0,002	5 "	—	—
0,1	0,05	0,1	0,002	5 "	fast compl.	incompl.
0,1	0,03	0,1	0,002	5 "	—	—
0,1	0,01	0,1	0,002	5 "	compl.	incompl.
0,1	0,008	0,1	0,002	5 "	compl.	—
0,1	0,005	0,1	0,002	5 "	compl.	fast compl.
0,1	0,003	0,1	0,002	5 "	compl.	compl.
0,1	0,001	0,1	0,002	5 "	compl.	compl.
—	0,1	0,1	0,002	5 "	Kuppe	Kuppe
—	0,08	0,1	0,002	5 "	—	—
—	0,05	0,1	0,002	5 "	compl.	compl.
—	0,03	0,1	0,002	5 "	—	—
—	0,01	0,1	0,002	5 "	compl.	compl.
0,1	—	0,1	0,002	5 "	compl.	compl.

Die sich aus diesem Versuch ergebenden Schlüsse sind folgende:

1. Pepton Chapoteaut vermag Complement zu binden.
2. Die Fähigkeit hierzu wird durch Zusatz von inactivem Serum gesteigert.
3. In unserem Falle erwies sich das Immunserum stärker wirksam als das normale Controlserum.

Versuch 20.

23. 3. 06. Prüfung des Serums eines 2. mit Chapoteautpepton vorbehandelten Kaninchens gegen Chapoteautpepton, Wittepepton, Hemialbumose, Rinderserum, Schweineserum und Pferdeserum.

Antiserum II vom 22. 3. gegen Chapoteaut- pepton	Chapoteaut- pepton	Wittepepton	Hemialbumose	Rinderserum	Schweine- serum	Pferdeserum
0,1	0,1 fast 0	0,005 compl.	0,005 incompl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 Kuppe
0,1	0,05 fast 0	0,001 compl.	0,001 compl.	0,05 compl.	0,05 compl.	0,05 Kuppe
0,1	0,01 compl.	0,0005 compl.	0,0005 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.
0,1	0,008 compl.	—	—	0,005 compl.	0,005 compl.	0,005 compl.
0,1	0,005 compl.	—	—	—	—	—
0,1 compl.	—	—	—	—	—	—
—	0,1 f. compl.	0,005 compl.	0,005 compl.	0,1 compl.	0,1 kl. Kuppe	0,1 0
—	0,05 compl.	0,001 compl.	0,001 compl.	0,05 compl.	0,05 incompl.	0,05 0
—	—	—	—	—	—	0,01 compl.

Hämolysin 1 : 2800.

Das Ergebniss dieses Versuches ist

1. Gegen Chapoteaut-Pepton bestehen bindende Gruppen.
2. Das Anti-Chapoteaut-Peptonserum enthält Amboceptoren auch gegen Hemialbumose (Grübler).
3. Gegen Wittepepton, Rinderserum, Schweineserum und Pferdeserum lassen sich keine Antikörper nachweisen.
4. Die im alten Serum von Pferden und Schweinen auftretende Complementbindung kann durch Zusatz von inactivem Serum verhindert werden.

Zur Controle der obigen Ergebnisse wurde ein Antihemialbumose-serum vom 23. 3. gegen Chapoteautpepton und Hemialbumose geprüft.

Versuch 21.

Antihemi- albumose- serum	Chapoteaut- pepton	Hemialbumose
0,1 cem	0,1 fast 0	0,005 gr. Kuppe
0,1 "	0,05 fast 0	0,001 Kuppe
0,1 "	0,01 fast 0	0,0001 incompl.
0,1 "	—	0,00001 compl.
0,1 compl.	—	—

Das Serum des mit Hemialbumose vorbehandelten Kaninchens enthält also Amboceptoren sowohl gegen Hemialbumose als Chapoteautpepton, was mit dem vorigen Versuche übereinstimmt. — Dieses Ergebniss ist nicht auffallend, da beide Präparate angeblich aus Rinder-eiweiss hergestellt sind und durch peptische Verdauung gewonnene Albumosen enthalten. Eine strenge Specificität in dem Sinne, dass das mit Chapoteautpepton gewonnene Serum stärker auf das homologe Präparat als das mit der Grübler'schen Hemialbumose hergestellte Serum gewirkt hätte, besteht nicht.

Versuch 22.

2. 4. 06. Prüfung, ob die gegen Chapoteautpepton vorkommenden Amboceptoren immunisatorisch erzeugt sind und welches ihre Specificität ist.

Chapoteaut-pepton	Ohne Serum	Anti-Chapoteaut-peptenserum vom 1. 4. 0,1 ccm	Anti-Wittepepton 0,1 ccm	Schweineeiweiss-präcipit. Serum 0,1 ccm
0,05	compl.	gr. Kuppe	gr. Kuppe	Kuppe
0,04	compl.	Kuppe	gr. Kuppe	Kuppe
0,03	compl.	kl. Kuppe	gr. Kuppe	kl. Kuppe
0,02	compl.	kl. Kuppe	gr. Kuppe	kl. Kuppe
0,01	compl.	kl. Kuppe	gr. Kuppe	kl. Kuppe
0,008	compl.	incompl.	incompl.	incompl.
0,006	compl.	incompl.	incompl.	fast compl.
0,004	compl.	fast compl.	incompl.	compl.
0,002	compl.	compl.	incompl.	compl.
—	—	compl.	compl.	compl.

Hämolsin 1 : 2500.

Alle drei untersuchten Sera enthalten also Amboceptoren gegen Chapoteaut-Pepton, und zwar wirkt das Antiwittepepton am stärksten, dann folgt das mit Chapoteaut-Pepton erzeugte Serum und zuletzt kommt das Schweineeiweiss präcipitirende Serum.

Vergleichen wir das aus dem letzten Versuch sich ergebende Resultat mit dem der beiden vorigen Versuche, so ergibt sich nun folgender Schluss sicher:

Das Chapoteaut-Pepton, das allein in nicht sehr hohem Maasse Complement zu binden vermag, gewinnt die Fähigkeit hierzu durch Zusatz von inactivem Kaninchenserum. Eine immunisatorische Steigerung lässt sich aus unseren Versuchen nicht mit voller Sicherheit erschliessen.

Nachdem durch unsere Versuche erwiesen worden, dass die peptischen Abbauprodukte wenigstens in ihren ersten Stadien noch ihre Antigeneigenschaft bewahren können und weiter die mit dem Wittepepton ausgeführten Untersuchungen es wahrscheinlich gemacht hatten, dass der erste Angriffspunkt an der constitutiven Gruppe zu suchen sei, bedurfte die Frage, wie weit diese Albumosen noch ihre Artspecificität bewahrt hätten, einer weiteren Untersuchung. Dieser Theil unserer Studien wurde von uns in Gemeinschaft mit Herrn Dr. J. Leva unternommen. Zu diesem Zweck immunisirten wir Kaninchen mit aus Rinder- und Schweineeiweiss von Grübler hergestellten Hemialbumosen. Allein die uns gelieferten Präparate unterschieden sich durch ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften so sehr von einander, dass von vornherein die Aussichten, auf diesem Wege zu einer Entscheidung zu gelangen, nicht gross waren. In der That waren die Resultate unsicher und widersprachen einander, so dass wir von einer Wiedergabe derselben absehen können.

Günstiger verliefen die Versuche, die in der Weise angestellt wurden, dass wir Rinder- und Schweineeiweiss präcipitirende Sera und ein Anti-

Wittepeptonserum auf von Herrn Dr. Seligmann hergestellte völlig eiweissfreie Rinder- und Schweinealbumose, die durch peptische Verdauung von Fibrin nach den Vorschriften von Salkowski's Lehrbuch gewonnen wurden, sowie auf Rinder- und Schweineserum und Wittepepton einwirken liessen.

Hierbei liess sich, trotzdem die Deutung der Versuche zum Theil nur mit Berücksichtigung der Controllen¹⁾ möglich war, doch folgendes feststellen:

1. Das Rindereiweiss präcipitirende Serum wirkte stark auf Rinderserum und schwächer auf Rinderalbumose.

2. Das Schweineeiweiss präcipitirende Serum wirkte stark auf Schweineserum und schwächer auf Schweinealbumose.

3. Das Antiwittepeptonserum wirkte deutlich auf Schweinealbumose und Wittepepton, sowie schwach auf Schweineserum.

4. Das Rindereiweiss präcipitirende Serum wirkte stärker auf Rinderalbumose, als auf Schweinealbumose.

5. Das Schweineeiweiss präcipitirende Serum wirkte stärker auf Schweinealbumose als auf Rinderalbumose.

Specifität der Albumosen.
Versuch 23. (10. 4. 06.)

Normalserum	Rinderalbumose Sel.	Schweine- albumose Sel.	Wittepepton	Rinderserum	Schweine- serum
0,1	0,05 incomp.	0,05 kl. Kuppe	0,005 f. compl.	0,005 compl.	0,005 compl.
0,1	0,025 compl.	0,025 incomp.	0,001 compl.	0,001 compl.	0,001 compl.
0,1	0,01 compl.	0,01 compl.	—	—	—
0,1 compl.	—	—	—	—	—
Anti-Wittepepton					
0,1	0,05 incomp.	0,05 Kuppe	0,005 Kuppe	0,005 compl.	0,005 Spur Hemmung
0,1	0,025 compl.	0,025 Kuppe	0,001 f. compl.	0,001 compl.	0,001 compl.
0,1	0,01 compl.	0,01 compl.	—	—	—
0,1 compl.	—	—	—	—	—
Rindereiweiss präcip. Serum					
0,1	0,05 Kuppe	0,05 incomp.	0,005 compl.	0,005 Kuppe	0,005 compl.
0,1	0,025 incomp.	0,025 incomp.	0,001 compl.	0,001 Kuppe	0,001 compl.
0,1	0,01 compl.	0,01 compl.	—	—	—
0,1 compl.	—	—	—	—	—
—	0,05 f. compl.	0,05 compl.	0,005 compl.	0,005 compl.	0,005 compl.
—	0,025 compl.	0,025 compl.	0,001 compl.	0,001 compl.	0,001 compl.

1) Es zeigte sich nämlich, dass die präcipitirenden Sera allein oft die Hämolyse zu stören vermögen. Diese Erscheinung beruht wahrscheinlich darauf, dass höchwerthige präcipitirende Sera für Rindereiweiss und Schweineeiweiss auch in geringem Maasse Meerschweincheneiweiss, das wir als Complement verwenden, präcipitirt resp. für dieses Amboceptoren hat und so einen Theil des Complementes bindet. Wir sehen dieses besonders deutlich in den folgenden Versuchen 2 und 3, in denen in den Serumcontrollen Hemmungen da sind. Für die richtige Beurtheilung dieser

Versuch 24.

Rindereiweiss präcip. Serum	Rinder- albumose Sel.	Schweine- albumose Sel.	Rinderserum	Schweine- serum
0,1	0,05 0	0,05 gr. Kuppe	0,005 0	0,005 gr. Kuppe
0,1	0,025 fast 0	0,025 gr. Kuppe	0,001 0	0,001 gr. Kuppe
0,1	0,01 fast 0	0,01 gr. Kuppe	0,005 0	0,0005 gr. Kuppe
0,1 gr. Kuppe	—	—	—	—
Schweineeiweiss präcip. Serum				
0,1	0,05 gr. Kuppe	0,05 0	0,005 Kuppe	0,005 0
0,1	0,025 gr. Kuppe	0,025 0	0,001 Kuppe	0,001 0
0,1	0,01 gr. Kuppe	0,01 0	—	—
0,1 Kuppe	—	—	—	—
—	0,05 kl. Kuppe	0,05 f. compl.	0,005 compl.	0,005 compl.
—	0,025 f. compl.	0,025 compl.	—	—
—	0,01 compl.	—	—	—

Versuch 25.

Rindereiweiss präcip. Serum	Rinder- albumose Sel.	Schweine- albumose Sel.	Rinderserum	Schweine- serum
0,05	0,05 0	0,05 incomp.	0,005 0	0,005 gr. Kuppe
0,05	0,025 gr. Kuppe	0,025 incomp.	0,001 0	0,001 gr. Kuppe
0,05	0,010 incomp.	0,010 incomp.	—	—
0,05 incomp.	—	—	—	—
Schweineeiweiss präcip. Serum				
0,05	0,05 gr. Kuppe	0,05 fast 0	0,005 Kuppe	0,005 0
0,05	0,025 incomp.	0,025 gr. Kuppe	0,001 Kuppe	0,001 0
0,05	0,01 incomp.	0,01 gr. Kuppe	—	—
0,05 f. compl.	—	—	—	—
—	0,05 kl. Kuppe	0,05 f. compl.	0,005 compl.	0,005 compl.
—	0,025 f. compl.	0,025 f. compl.	—	—

Die Versuche, mit den von Dr. Seligmann freundlichst hergestellten Albumosen Immunamboceptoren bei 2 Kaninchen zu erzeugen, misslingen, wie sich aus nachstehendem Protokoll ergibt, das im Uebrigen die Resultate der letzten Experimente bestätigt.

Versuche ist daher die Controllhemmung in Abzug zu bringen, so dass sich also folgende Correctur ergibt:

- 0,1 ccm Rindereiweiss präcipitirende Serum bewirkt grosse Kuppe,
- 0,1 ccm desgleichen + 0,05 ccm Schweinealbumose grosse Kuppe.

Da keine Steigerung der Hemmung eingetreten ist, ist kein spec. Amboceptor für Schweinealbumose vorhanden.

3. 0,1 ccm desgleichen + 0,05 ccm Rinderalbumose 0 = vollständige Hemmung der Hämolyse, d. h. es findet eine stärkere Hemmung als in der Controlle statt; folglich spec. Wirkung vorhanden.

Behandlung von Kaninchen mit Albumosen (Seligmann).

Kaninchen

10. 4. 1 g Rinderalbumose subcut.

14. 4. 2 g

20. 4. Serum entzogen. S. Versuch

Kaninchen

10. 4. 1 g Schweinealbumose subcut.

14. 4. 2 g

20. 4. Serum entzogen. s. Versuch

Versuch 26.

21. 4. 06. Ueber Specificität der Albumosen und die Frage der Erzeugung von Immun-Antialbumosen.

Rinder- albumose Sel.	0,1 cem Normal- serum	0,1 cem Anti- Rinder- albumose	0,1 cem Rinder- praecip. Serum	0,1 cem Anti- Schweine- albumose	0,1 cem Schweine- praecip. Serum	0,1 cem Anti- Wittepepton
0,05	incompl.	compl.	Kuppe	compl.	compl.	incompl.
0,025	compl.	compl.	incompl.	compl.	compl.	compl.
0,01	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,005	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,05 compl.	—	—	—	—	—	—
Rinderserum						
0,005	compl.	compl.	0	compl.	compl.	compl.
0,001	compl.	compl.	0	compl.	compl.	compl.
0,0005	compl.	compl.	fast 0	compl.	compl.	compl.
0,0001	compl.	compl.	gr. Kuppe	compl.	compl.	compl.
0,00001	compl.	compl.	Kuppe	compl.	compl.	compl.
0,005 compl.	—	—	—	—	—	—
Schweine- albumose Sel.						
0,05	compl.	compl.	compl.	compl.	incompl.	Kuppe
0,025	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	Kuppe
0,01	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	incompl.
0,005	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.	compl.
0,05 compl.	—	—	—	—	—	—
Schweine- serum						
0,005	compl.	compl.	compl.	compl.	0	Spur
0,001	compl.	compl.	compl.	compl.	0	Hemmung
0,0005	compl.	compl.	compl.	compl.	0	compl.
0,0001	compl.	compl.	compl.	compl.	0	compl.
0,00001	compl.	compl.	compl.	compl.	incompl.	compl.
0,005 compl.	—	—	—	—	—	—
—	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.

Haemolysin: 1 : 1000.

Ergebniss: Die von Dr. Seligmann hergestellten Albumosen be-
sassen in unseren Versuchen noch eine gewisse Specificität, wir ver-
mochten aber (selbst bei lange fortgesetzter Behandlung) nicht, mit den-
selben eine Steigerung der Immunamboceptoren bei den damit vorbehandelten

Thieren zu erzeugen. Dagegen besass das mit Wittepepton erzeugte Immunserum eine deutliche Einwirkung gegen Schweinealbumose und eine viel schwächere gegen natives Schweineserum, was zu dem Schluss berechtigt, dass dieses Serum wirkliche Anti-Albumoseamboceptoren enthielt. Das Versagen des Anti-Wittepeptonserums gegen die Rinderalbumose deutet auf eine noch vorhandene Thierspecificität der Albumosen selbst hin, wie schon oben erwähnt. Es berechtigt dies zu dem Wahrscheinlichkeitsschluss, dass die Artspecificität bei unseren Albumosen noch erhalten war, immerhin aber mit dem Vorbehalte, dass wir bei der Schärfe dieser Methode zum Nachweis selbst von Spuren Eiweiss (M. Neisser und Sachs) eventuell noch kleine Reste des nativen oder modificirten Eiweisses in den Albumosepräparaten nachgewiesen haben.

Pepton. purissim.

Da uns bei unseren Versuchen der Wunsch leitete, eventuell festzustellen, wie weit der Abbau der Verdauungsproducte fortschreiten darf, bevor sie die Fähigkeit, als Antigen zu wirken, verlieren, so stellten wir weitere Untersuchungen mit reinem Pepton an. Es standen uns hierbei Präparate zur Verfügung, die uns von Grüber, sowie solche, die von Herrn Dr. Seligmann¹⁾ hergestellt wurden.

Diesen Präparaten war es gemeinsam, dass sie nur in sehr geringem Maasse Complement zu binden vermochten, und dass die Fähigkeit hierzu durch Zusatz von normalem Immunserum keine nennenswerthe Steigerung erfuhr.

Wir geben als Beispiel folgendes Versuchsprotokoll:

Versuch 27.

Serum	Pepton (Grüber)	Com- plement	Hämo- lysin	Blut pCt.	Normalserum	Antipepton- serum (Grüber)
0,1	0,1	0,1	0,002	1 cem 5	0	0
0,1	0,08	0,1	0,002	1 " 5	—	—
0,1	0,05	0,1	0,002	1 " 5	incomplet	complet
0,1	0,03	0,1	0,002	1 " 5	—	complet
0,1	0,01	0,1	0,002	1 " 5	complet	complet
0,1	0,008	0,1	0,002	1 " 5	complet	complet
0,1	0,005	0,1	0,002	1 " 5	complet	complet
0,1	0,003	0,1	0,002	1 " 5	complet	complet
0,1	0,001	0,1	0,002	1 " 5	complet	complet
—	0,1	0,1	0,002	1 " 5	Kuppe	Kuppe
—	0,08	0,1	0,002	1 " 5	—	—
—	0,05	0,1	0,002	1 " 5	complet	complet
—	0,03	0,1	0,002	1 " 5	—	—
—	0,01	0,1	0,002	1 " 5	complet	complet
0,1	—	0,1	0,002	1 " 5	complet	complet

Auf Grund dieser unserer Untersuchungen glauben wir zu folgendem Schluss kommen zu dürfen. Die ersten Stadien der peptischen Abbau-

1) Bezüglich der Darstellung s. o.

producte, wie wir sie in den Hemialbumosen und im Wittepepton vorfinden, haben die Fähigkeit, bindende Gruppen immunisatorisch zu erzeugen, noch bewahrt. Je weiter der peptische Verdauungsprocess fortschreitet, desto geringer wird diese Fähigkeit, indem das Chapoteautpepton sowie die von Dr. Seligmann hergestellten Albumosepräparate zwar noch im normalen Serum bindende Gruppen vorfinden, diese aber nicht mehr steigern können, bis schliesslich in den reinen Peptonen Körper entstehen, die selbst im normalen Serum fast keine bindenden Gruppen mehr finden.

Drüsen-Pepton.

Dieses von dem Höchster Farbwerk uns gelieferte Präparat ist ein nach Kühne's Methode hergestelltes, tryptisch-autolytisch gewonnenes Abbauprodukt des Eiweisses; es entsteht aus der Selbstverdauung des Pankreas. Ebenso wie die mit peptischer Verdauung gewonnenen Peptone band unser Drüsenpepton nur sehr wenig Complement. Durch Serumzusatz fand keine wesentliche Beeinflussung statt, gleichviel, ob das Serum von normalen oder vorbehandelten Kaninchen stammte. Wir müssen also sagen, dass nach unseren Untersuchungen das Drüsenpepton kein Antigen mehr ist. Es besteht hier eine Uebereinstimmung mit Pick und Obermeyer, die für ein ähnliches Präparat feststellten, dass es nicht als Präcipitinogen zu wirken vermöge.

Versuch 28.

Serum	Drüsen-pepton	Com-plement	Hämolyt. Serum	Hammel-blut pCt.	Normalserum	Drüsen-peptonserum 14. 3
0.1	0.1	0.1	0,002	1 ccm 5	0	0
0.1	0.08	0.1	0,002	1 " 5	—	—
0.1	0.05	0.1	0,002	1 " 5	incomplet	complet
0.1	0.03	0.1	0,002	1 " 5	—	—
0.1	0.01	0.1	0,002	1 " 5	complet	complet
0.1	0.008	0.1	0,002	1 " 5	complet	complet
0.1	0.005	0.1	0,002	1 " 5	complet	complet
0.1	0.003	0.1	0,002	1 " 5	complet	complet
0.1	0.001	0.1	0,002	1 " 5	complet	complet
—	0.1	0.1	0,002	1 " 5	Kuppe	Kuppe
—	0.08	0.1	0,002	1 " 5	—	—
—	0.05	0.1	0,002	1 " 5	complet	complet
—	0.03	0.1	0,002	1 " 5	—	—
—	0.01	0.1	0,002	1 " 5	complet	complet
0.1	—	0.1	0,002	1 " 5	complet	complet

Hämolysin 1 : 2800.

Versuch 29 (23. 3. 06).

Drüsenpepton	Ohne Serum	Normalserum 0,1 ccm	Anti-Drüsenpepton (4. Injection) vom 22. 3.
0,1	Kuppe	gr. Kuppe	gr. Kuppe
0,05	complet	complet	complet
0,01	complet	complet	complet
0,005	complet	complet	complet

Seidenpepton.

Das letzte Präparat, das wir untersuchten, war das sogenannte Fibroinpepton oder Seidenpepton, das uns von Herrn Dr. Peter Bergell gütigst überlassen wurde. Wir sprechen Herrn Dr. Bergell an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank dafür aus.

Das Seidenpepton unterscheidet sich von den bisher besprochenen Eiweissderivaten principiell dadurch, dass es ohne Einwirkung von Verdauungssäften gewonnen wird. Es ist in physiologischer Kochsalzlösung leicht löslich.

Das Seidenpepton bot in unseren Experimenten ein ganz besonders interessantes Verhalten dar. Es unterschied sich von den bisher besprochenen Eiweissderivaten dadurch, dass sich ein Vermögen, Complement zu binden, bei den von uns gewählten Mengen und Versuchsbedingungen wenigstens, überhaupt nicht nachweisen liess, dass aber Zusatz von inactivem Normalserum stärkste Complementbindung auslöste. Dieses Verhalten war ein absolut regelmässiges, wie wir in zahlreichen Versuchen feststellen konnten, wenngleich individuelle Schwankungen stets vorhanden waren. Wir haben das Seidenpepton wegen seines sehr charakteristischen Verhaltens deshalb besonders zu Demonstrationszwecken benutzen können, weil hier das Aufsuchen einer unterbindenden Dosis durch einen Vorversuch überflüssig ist.

Die folgenden Protokolle bringen die Ergebnisse unserer Experimente zum Ausdruck, so weit sie sich insbesondere mit der Frage der Erzeugung von Immunamboceptoren befassten.

Vorbehandlung von Kaninchen mit Seidenpepton.

Kaninchen No. 1.

- 5. 4. 06. 0,5 g Seidenpepton subcut.
- 10. 4. 06. 2,0 g " "
- 17. 4. 06. Serum entzogen.
- 18. 4. 06. 2,0 g Seidenpepton subcut.
- 29. 4. 06. †.

Kaninchen No. 2.

- 5. 4. 06. 0,5 g Seidenpepton subcut.
- 10. 4. 06. 2,0 g " "
- 17. 4. 06. Serum entzogen.
- 18. 4. 06. 2,5 g Seidenpepton subcut.
- 2. 5. 06. †.

Kaninchen No. 3.

- 15. 5. 06. 0,2 g Seidenpepton subcut.
- 20. 5. 06. 0,2 g " "
- 30. 5. 06. Serum entzogen.
- 30. 5. 06. 0,3 g Seidenpepton subcut.
- 11. 6. 06. †.

Kaninchen No. 4.

- 15. 5. 06. 0,2 g Seidenpepton subcut.
- 19. 5. 06. 0,3 g " "
- 30. 5. 06. Serum entzogen.
- 30. 5. 06. 0,3 g Seidenpepton subcut.
- 15. 6. 06. 0,3 g " "
- 23. 6. 06. †.

Versuch 30 (5. 4. 06).

Seidenpepton	Ohne Antiserum	Normalserum 0,1	Anti-Wittepepton 0,1
0,1	complet	—	fast 0
0,05	complet	—	incomplet
0,025	complet	fast 0	incomplet
0,0125	complet	gr. Kuppe	complet
—	—	0,1 complet	0,1 complet

Im normalen Kaninchenserum finden sich also sehr zahlreiche Amboceptoren gegen Seidenpepton.

Versuch 31.

a) Seidenpepton (6. 4. 06).

Seidenpepton	Normalserum I	Normalserum II	Normalserum III	Anti-Wittepepton	Anti-Chapoteaut-pepton
0,02	0,1 0	0,1 fast 0	0,1 gr. Kuppe	0,1 fast 0	0,1 incomp.
0,02	0,05 gr. Kuppe	0,05 f. compl.	0,05 compl.	0,05 incomp.	0,05 compl.
0,02	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.
0,02 compl.	—	—	—	—	—
—	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,01 compl.	0,1 compl.

b) Chapoteautpepton.

Chapoteaut-pepton					
0,05	0,1 0	0,1 gr. Kuppe	0,1 Kuppe	0,1 gr. Kuppe	0,1 incomp.
0,05	0,05 gr. Kuppe	0,05 incomp.	0,05 compl.	0,05 gr. Kuppe	0,05 compl.
0,05	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.
0,05	0,005 compl.	0,005 compl.	0,005 compl.	0,005 compl.	0,005 compl.
0,05 compl.	—	—	—	—	—

c) Wittepepton.

Wittepepton					
0,002	0,1 0	0,1 0	0,1 Kuppe	0,1 0	0,1 incomp.
0,002	0,05 incomp.	0,05 incomp.	0,05 f. compl.	0,05 gr. Kuppe	0,05 compl.
0,002	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 compl.	0,01 incomp.	0,01 compl.
0,002	0,005 compl.	—	—	—	—
				0,005 compl.	

In allen 3 Serien zeigt sich Normal-Serum I und Antiwittepepton-Serum am stärksten, die Reihenfolge ist bei Seidenpepton und Chapoteaut-Pepton so, dass zuerst das Normal-Serum I steht, dagegen erweist sich dem Wittepepton gegenüber das Antiwittepepton stärker.

Findet durch die Vorbehandlung von Kaninchen mit Seidenpepton eine Steigerung des Amboceptorengehaltes statt?

Versuch 32 (18. 4. 06).

Seidenpepton	Serum des Kaninchens No. 1.		Serum des Kaninchens No. 2.		Serum eines mit Drüsen- pepton behandelten Kaninchens	Serum eines mit Glykogen Grübler behandelten Kaninchens
	vor der Behandlung 5. 4.	nach der Behandlung mit Seiden- pepton 17. 4.	vor der Behandlung 5. 4.	nach der Behandlung 17. 4.		
0,02	0,1 incompl.	0,1 f. compl.	0,1 fast 0	0,1 kl. Kuppe	0,1 0	0,1 0
0,02	0,08 incompl.	0,08 compl.	0,08 kl. Kuppe	0,08 incompl.	0,08 fast 0	0,08 fast 0
0,02	0,05 compl.	0,05 compl.	0,05 l. Hemmg.	0,05 compl.	0,05 l. Hemmg.	0,05 incompl.
0,02	0,03 compl.	0,03 compl.	0,03 compl.	0,03 compl.	0,03 compl.	0,03 compl.
0,02 compl.	—	—	—	—	—	—
—	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.	0,1 compl.

Hämolsin : 1 : 1500.

Ergebniss: Der Gehalt an Amboceptoren ist trotz der Vorbehandlung mit Seidenpepton nicht gestiegen, sondern sogar noch gesunken. Er ist auch wesentlich niedriger, als in 2 anderen Seris von Kaninchen, von denen das eine Drüsenpepton-, das andere Glykogeninjectionen erhielt.

Versuch 33 (31. 5. 06).

Seidenpepton	Serum des Kaninchens No. 3		Serum des Kaninchens No. 4	
	vor der Behandlung 15. 5.	nach 2 Injectionen 30. 5.	vor der Behandlung 15. 5.	nach 2 Injectionen 30. 5.
0,02	0,2 0	0,2 0	0,2 complet	0,2 Kuppe
0,02	0,15 0	0,15 0	0,15 complet	0,15 Kuppe
0,02	0,1 0	0,1 0	0,1 complet	0,1 Kuppe
0,02	0,05 0	0,05 Kuppe	0,05 complet	0,05 complet
0,02	—	0,01 complet	—	—
0,02 compl.	—	—	—	—
—	0,2 complet	0,2 complet	0,2 complet	0,2 complet

Hämolsin (Titer 1 : 3000): 1 : 1500.

Ergebniss: Das Kaninchen No. 3 zeigte nach 2 Injectionen eine Verminderung des Antikörpergehaltes, No. 4 eine Vermehrung. Die drei Kaninchen, deren Antikörpergehalt sich verminderte, starben nach der folgenden Injection, das eine Kaninchen No. 4, dessen Antikörpergehalt sich vermehrte, blieb nach der folgenden Injection am Leben.

Die Deutung der beim Seidenpepton von uns erhobenen Befunde ist besonders schwierig und sehen wir zunächst von jedem Erklärungsversuch ab. Leider war es uns nicht möglich, weitere Versuche mit diesem interessanten Präparate zu machen, weil das uns zur Verfügung gestellte Quantum hierzu nicht ausreichte. Es wäre auch die Frage ins-

besondere noch genauerer Untersuchungen werth, ob es sich bei der Abnahme der bindenden Gruppen im Normalserum bei der Vorbehandlung mit Seidenpepton um eine regelmässige oder wenigstens häufige Erscheinung handelt, ferner ob dieser Vorgang im Zusammenhang mit der Art steht, wie das Thier die Injection von Seidenpepton verträgt. Endlich wäre noch zu untersuchen, ob nicht vielleicht durch die Seidenpeptoneinspritzungen das hämolytische Vermögen des Kaninchenserums gegen Hammelblut gesteigert wird, da auf diesem Wege dann eine Abnahme der Peptonamboceptoren vorgetäuscht werden könnte. Sollten sich unsere Resultate jedoch bei weiteren Nachprüfungen bestätigen lassen, dann wäre es besonders wichtig, vergleichende Stoffwechseluntersuchungen mit dem Seidenpepton anzustellen, da, wie wir weiter sehen werden, ein Parallelismus zwischen dem Vorhandensein von bindenden Gruppen im Serum für die colloidalen Nährstoffe und deren Assimilationsfähigkeit zu bestehen scheint.

Schluss.

Es ist zweifellos, dass die vorliegende Methode äusserst complicirt ist und besonders für den Unerfahrenen vielerlei Fehlerquellen in sich birgt. In dem vorliegenden Fall, wo es sich um Stoffe handelt, die sich nicht durch so charakteristische Eigenschaften wie beispielsweise die pathogenen Mikroorganismen auszeichnen, ist die Anwendung dieser Methode besonders schwer. Während es nämlich bei pathogenen Mikroorganismen leicht gelingt nachzuweisen, dass die Complementbindung durch den Herantritt eines specifischen Antikörpers an das Typhusmolekül z. B. erfolgt, lässt sich ein solcher Nachweis beim Glykogen z. B. nicht führen. Wir können deshalb nur mit Rücksicht auf die Analogien mit den Vorgängen an den besser zu überblickenden pathogenen Mikroorganismen den Wahrscheinlichkeitsschluss machen, dass es sich hier bei den Nährstoffen um die Functionen bestimmter Substanzen handelt, welche in den normalen Körperflüssigkeiten vorhanden sind und sich mit dem Nährstoff-Molekül verbinden können. Dabei scheint es nicht einmal, als ob die Thatsache, dass ein Molekül für den Organismus assimilirbar, d. h. als Nährstoff geeignet ist, wirklich entscheidend für dieses Phänomen ist, zumal nach unseren eigenen Erfahrungen und den Versuchen von Landsteiner und Stankovic (18) der colloidale Charakter des Moleküls für das Phänomen der Complementbindung in Lösungen von grosser Wichtigkeit ist. Unsere Vorstellung geht dahin, dass die Veränderung der physikalisch-chemischen Beschaffenheit eines Moleküls durch den Eintritt einer anderen Substanz in dieses die Ursache für die Complementbindung ist¹⁾. Wir möchten also den Nachdruck

1) Damit wollen wir nicht einmal ausdrücken, dass diese Substanz zu dem Nährstoffmolekül in dem Verhältniss des Antikörpers zum Antigen stehen muss. — Wir haben also keinen bestimmten Anhaltspunkt dafür, dass die Substanz, die, im normalen Serum vorkommend, beispielsweise in das Glykogen eintritt, und so die Complementbindung verursacht, ein Antiglykogen ist. Vielmehr kann dies irgend eine Substanz sein, die im Stande ist, an das Glykogen-Molekül heranzutreten und dieses so physikalisch-chemisch zu verändern.

auf das physikalische legen. Auch für die Bildung dieser unserer Ansicht waren die Erfahrungen maassgebend, die wir auf dem Gebiete der Infectionserreger gesammelt haben, denn es zeigte sich dort, dass man Complementbindungen nur mit solchen Seris erhält, welche wir bisher zu den anti-infectiösen im weitesten Sinne rechnen. Solche Sera haben aber in ausgesprochenstem Maasse die Wirkung, dass sie die betreffenden Antigenmoleküle in ihrem physikalischen Aggregatzustande verändern, indem sie sie zusammenballen (präcipitirende Wirkung) oder sie auflösen (lytische Wirkung). Hierbei lassen wir es vollkommen dahingestellt, ob diese beiden Wirkungen, die Präcipitirung und die Lyse, zwei ganz verschiedene Vorgänge sind und von zwei ganz verschiedenen Substanzen (einerseits den Präcipitinen, andererseits den Amboceptoren), hervorgerufen werden. Nur das eine können wir mit Sicherheit sagen, dass ein sichtbarer Präcipitationsvorgang nicht dabei nöthig ist. Nun können wir aber nachweisen, dass die Präcipitirung aus zwei Phasen besteht, einmal aus dem Zusammentritt zweier Substanzen (der präcipitablen und der präcipitirenden Substanz), andererseits aus dem Eintritt der sichtbaren Ausflockung. Diese letztere kann, wie wir durch die Untersuchungen von Joos, Neisser und Bechtold, Eisenberg u. a. wissen, durch mannigfache Einflüsse behindert werden, so durch Aenderung der Salzconcentration, insbesondere aber durch schützende Eiweissstoffe.

Demgemäss können wir auch nicht mit Sicherheit im vorliegenden Falle behaupten, um welche Art Substanzen es sich handelt, die in die Nährstoffmoleküle eintreten und dadurch das Phänomen der Complementbindung hervorrufen. Dass thatsächlich Stoffe, die im Körperhaushalte vorkommen, an Nährstoff-Moleküle herantreten können, dafür sprechen die in der Fussnote aufgeführten Arbeiten¹⁾. Wir können vielmehr nur auf Grund unserer Protokolle die nackten Thatsachen bringen und an der Hand derselben prüfen, inwieweit diese geeignet sind, für die mit

1) Kutscher (22) machte die Beobachtung, dass eine aus dem Witte'schen Pepton isolirte Albumose (Deuteroalbumose) Globuline aus Pferdeserum, Vitellin, Myosin und Muskelsyntonin aus alkalischer Lösung zu fällen vermochte. Das gleiche Fällungsvermögen zeigten Protalbumosen und das klar filtrirte Albumosegemisch des Witte'schen Peptons. Liess man die genannten Eiweisslösungen zu verdünnten Albumoselösungen tropfen, dann bildete sich eine starke Trübung, die sich schnell zu Flocken zusammenballte und als voluminöser Niederschlag auf den Boden des Gefässes sank.

Die Ursache dieser Niederschlagsbildung sieht Kutscher darin, dass es zwischen Globulin, Vitellin, Myosin und Albumosen zu globulinartigen Verbindungen kommt.

Hierfür spricht auch folgende Beobachtung Hildebrandts (Verhandl. d. Congr. f. innere Medicin 1893). Hildebrandt versetzte Hundeserum mit Somatose (Deutero- + Heteroalbumose) und konnte nach einiger Zeit eine Abnahme der zugefügten Albumosen, dagegen eine Zunahme der Globuline constatiren. (Z. f. phys. Chemie, Bd. 18, S. 190, 191.)

Weiter berichtet Hildebrandt über Injectionen von Somatose in die Gefässe von Hunden. Der Erfolg war ein Verschwinden der Somatose und eine Zunahme

gewissen Nährstoffen an Lebenden gemachten Erfahrungen bei Stoffwechsel- und Ernährungsversuchen eine Erklärung zu geben.

Auch in dieser Hinsicht müssen wir bei der Verwerthung unserer Resultate Vorsicht walten lassen. Vor Allem ist hierbei zu berücksichtigen, dass wir alle unsere Versuche parenteral am Kaninchen vorgenommen haben. Wir dürfen daher zum etwaigen Vergleich streng genommen nur derartige Stoffwechseluntersuchungen heranziehen, bei denen gleichfalls die Zufuhr der Nährstoffe mit Umgehung des Darmrohres am Kaninchen geschah. Denn unsere Kenntnisse über die verschiedenen Phasen, welche ein Nährstoffmolekül während der Darmverdauung und Resorption erleidet, sind noch so lückenhaft und so widersprechend, dass wir diesen Theil vorläufig bei unseren Versuchen ausser Acht zu lassen, vorzogen.

Weiterhin üben bereits die Art der Herstellung eines Präparates wie aus unseren Versuchen bei Glykogen, Peptonen und Albumosen zu ersehen ist, einen beträchtlichen Einfluss auf den Ausfall des Experimentes aus. Das sind Dinge, die durch die Arbeiten von Pick und Obermeyer unserem Verständniss näher gerückt sind, indem diese Autoren zeigten, dass bereits die Erhitzung eines Eiweissmoleküls genügt, um dieses an andere Gruppen (Receptoren) des Organismus angreifen zu lassen, als das gleiche unerhitzte Molekül. Trotzdem aber ergeben sich bei Innehaltung dieses vorsichtigen Standpunktes bemerkenswerthe Analogien zwischen dem Ausfall unserer Versuche und den Beobachtungen anderer Autoren am lebenden Organismus.

In dieser Hinsicht möchten wir an die Spitze unserer Ausführungen die Frage nach der teleologischen Bedeutung von Substanzen im Serum,

der Globuline des Blutes. Diese Resultate erklären sich nach Kutscher ebenfalls durch das Eintreten einer Verbindung von Albumosen mit den Blutglobulinen.

Auf die gleiche Weise erklärt Kutscher die Deficite, welche Hofmeister (23) stets bei seinen subcutanen oder intravenösen Injectionen von „Pepton“ zwischen dem den Thieren injicirten und dem durch dieselben zur Ausscheidung gebrachten Pepton bemerkte.

Freilich konnten diese Kutscher'schen Befunde von Ch. Inagaki (24) in einer eben erschienenen Arbeit nicht bestätigt werden. Inagaki versetzte verschiedene Präparate von Deuteroalbumose mit Hunde- und Pferdeserum, ohne dass irgend eine Trübung oder Fällung auftrat. Auch die weiteren Bemühungen mit chemischen Methoden, eine in Lösung gebliebene Verbindung von Albumosen und Serumbestandtheilen festzustellen, führten zu keinem Ergebniss. Dieser negative Ausfall der Versuche Inagaki's beweist natürlich keineswegs, dass keine gelösten Verbindungen vorhanden waren, sondern es liegt sehr wohl die Möglichkeit vor, dass nur die zur Verfügung stehenden chemischen Methoden unzureichend sind, während vielleicht die biologische Complementbindung zum Ziele geführt hätte.

Sehr bemerkenswerth erscheint im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen die von Inagaki festgestellte Affinität der Albumosen zum Nucleohiston. Dieses verbindet sich salzartig mit ihnen, solange es in freiem oder dissociirtem Zustande ist, woraus folgt, „dass die im Körper selbst gebildeten oder künstlich hineingebrachten Albumosen von den Zellsubstanzen aufgenommen oder fixirt werden können“. Diese Fixation ist aber nach Ehrlich die nothwendige Voraussetzung für die Entstehung von Amboceptoren und Antistoffen überhaupt.

welche eine Affinität zu Nährstoffen besitzen, stellen. Diese würden die Wirkung haben, dass sie das Nährstoffmolekül nach der Richtung verändern, dass es schwerer ausgeschieden wird, um es so der Säfte-masse bezw. den Zellen zu ermöglichen, die Nährstoffe nach dem Bedarfsort zu transportiren, wo der Nährstoffhunger, d. h. eine erhöhte Spannung zu diesen Stoffen herrscht und wo sie in Folge eben dieser erhöhten Spannung aus dem Blute abgegeben werden. Das ist ja eine Auffassung, die Ehrlich seit langem vertritt. Wenn diese Ansicht richtig ist, dann muss sich dies im Experiment in vivo so äussern, dass Stoffe, für die wir bei unserer Versuchsanordnung bindende Gruppen nachweisen können, bei parenteraler Einführung nicht sofort ausgeschieden werden dürfen, sondern vielmehr als Nährstoffe dienen können. Weiterhin können wir, falls wir die betr. Stoffe des normalen Serums auf Grund der Ehrlich'schen Theorie als von den lebenden Organen abgestossen auffassen, ihr Vorhandensein als Indicator dafür betrachten, dass für das betr. Nährstoffmolekül aufnahmefähige Zellen irgendwo im Organismus sind, dass es also assimilirbar ist.

In dieser Hinsicht findet sich in der That ein sehr bemerkenswerther Parallelismus zwischen den in unseren Versuchen niedergelegten Ergebnissen und den Stoffwechseluntersuchungen anderer Autoren, besonders bezüglich des Wittepeptons und der Hemialbumose einerseits und des Drüsenpeptons andererseits.

Während für das Wittepepton und die Hemialbumosen in unseren Versuchen bindende Substanzen im Serum nachgewiesen werden konnten, die sich sogar anscheinend immunisatorisch steigern liessen, war dies für Drüsenpepton fast garnicht der Fall. Thatsächlich stimmen in der Literatur bezüglich des Wittepeptons und der Hemialbumose die Angaben darin überein, dass diese Stufe noch ein ausgesprochener Eiweissparer, wenigstens bei der Einführung per os, ist. Wir verweisen diesbezüglich, ohne irgendwie den Anspruch auf Vollständigkeit zu erheben, auf die Arbeiten von Pollitzer (25) v. Gerlach (26), Ellinger (27) und Blum (28). Was ihr Verhalten bei parenteraler Einführung anbelangt, so verzichten wir auf das Eingehen auf die diesbezügliche Literatur und begnügen uns mit dem Hinweis auf zwei zusammenfassende Arbeiten von v. Leube und Umber. Während v. Leube (29) die Peptone und Albumosen für unbrauchbar, ja gefährlich hält, wenn sie mit Umgehung der Darmwand, d. h. ohne in derselben die nothwendigen Umformungen erfahren zu haben, in die Blutbahn gelangen, und angiebt, dass sie bei ihrer Circulation im Blute toxische Wirkungen entfalten und als Fremdstoffe ausgeschieden werden, führt Umber (30), gestützt auf die Untersuchungen von Pick und Spiro die Giftigkeit der Peptone und Albumosen auf das Peptozym, das ihnen anhaftet, zurück. Befreit man die Präparate vom Peptozym, dann fallen nach diesen Autoren ihre toxischen Eigenschaften weg. Im übrigen seien die Albumosen und Peptone nicht gleichwerthig, indem die ersteren Eiweiss ersetzen können, während die letzteren dies nicht mehr zu thun vermögen. „Wenn wir noch ausserdem sehen, wie auch im normalen Organismus Albumosen intermediär im Blute kreisen, und sich auch

sonst im Körper finden — wie z. B. in gewissen Exsudaten der serösen Höhlen, ohne in den gleichzeitigen Urin überzugehen, so muss sich uns doch die Vorstellung aufdrängen, dass Albumosen als solche, wie sie die Darmwand resorbirt und wie sie intermediär im Stoffzerfall entstehen, überhaupt garnichts Körperfremdes und damit Giftiges sind.“

Auf Grund unserer biologischen Untersuchungen werden wir diesen Standpunkt Umber's für gerechtfertigt halten müssen, indessen mit der einschränkenden Berücksichtigung, dass die Albumosen bei parenteraler Einführung vermöge ihrer nach unseren Ergebnissen noch erhaltenen Art-specificität ebenso wie heterologes Eiweiss toxisch wirken können, während sie vom Darme aus, wegen der dort weiter erfolgenden Artenspecificierung besser vertragen werden. Damit würden die Leube'schen Beobachtungen über die Giftigkeit dieser Präparate bei parenteraler Einführung eine Erklärung finden.

Anders als die Hemialbumosen verhält sich nach den Stoffwechselversuchen Ellinger's das Drüsenpepton (Antipepton nach Kühne). Das Drüsenpepton vermochte vom Darme aus zwar den Stickstoffverlust zu verringern, aber nicht ganz aufzuheben, während wir über parenterale Versuche mit diesem Präparate nichts aussagen können. Es ist jedoch anzunehmen, dass es bei parenteraler Einführung noch weit weniger geeignet ist, Eiweissstoffe zu ersetzen. In Uebereinstimmung damit steht der von uns erhobene Befund, dass das Drüsenpepton im Serum fast keine bindenden Gruppen vorfindet, sowie die von Pick und Obermeyer gefundene Thatsache, dass es nicht als Präcipitinogen zu wirken vermag.

Aber nicht nur für die Gruppe der Eiweissderivate lassen sich derartige Uebereinstimmungen zwischen den Ergebnissen unserer Versuche und den in vivo angestellten feststellen, sondern auch für das Glykogen. Hier sind besonders die von Gürber unter von Leube's (29) Leitung ausgeführten Untersuchungen bedeutungsvoll, welche zeigten, das Glykogen bei subcutaner Anwendung gut resorbirt und assimiliert wird. Wenigstens war im Urin mehrere Tage lang weder Zucker noch Glykogen nachweisbar. Anders verhielt sich das Dextrin. Dieses wurde zwar gut resorbirt, wurde aber dann unverbrannt mit dem Urin ausgeschieden, was zu dem von Wendelstadt erhobenen Befund, dass das Dextrin kein Complement zu binden vermag, vorzüglich stimmt. Ebenso zeigte Wendelstadt (15), dass das Gummi arabicum und die Cellulose, zwei Substanzen, von denen es seit langem bekannt ist, dass sie nicht assimilirbar sind, Complement nicht binden.

Somit ersehen wir, dass eine Reihe von Thatsachen dafür spricht, dass es sich bei diesen Versuchsergebnissen seitens gewisser Nährstoffe in vitro um Vorgänge handelt, die möglicherweise auch im lebenden Organismus eine Rolle spielen. Als weitere Stütze hierfür wäre auch der folgende mit den in vitro gemachten Beobachtungen im Einklang stehende Versuch Wendelstadt's anzuführen. Dieser Autor fand, dass bei Kaninchen, denen er innerhalb 24 Stunden dreimal je 1 g reines Glykogen intravenös injicirte, das Complement aus dem Serum verschwand und erst ganz allmählich nach einigen Tagen wiederkehrte.

Wir sind natürlich weit davon entfernt, heute bereits zu behaupten, dass es möglich sei, mit Hilfe des von uns angegebenen Weges experimentell diese schwierigen Fragen der Ernährung und des Stoffwechsels erfolgreich zu bearbeiten. Immerhin erscheinen uns aber unsere bisherigen Versuche die Möglichkeit zuzulassen, dass man mit dieser Untersuchungsmethode manche noch ungelöste Frage aus dem Gebiet der Ernährungs- und Stoffwechselstörungen studieren könnte. Weiterhin dürfte es sich empfehlen, durch grössere Versuchsreihen mittelst verschiedenster Präparate zu entscheiden, ob der aus unseren bisherigen Versuchen hervorgehende Parallelismus zwischen dem Complementbindungsvermögen von Nährstoffen unter dem Einflusse normalen Serums und der Fähigkeit des Organismus, diese zu assimiliren, durchgehend ist, oder ob es sich in unseren Versuchen nur um eine zufällige Uebereinstimmung handelt.

Nachtrag.

Nach Fertigstellung unseres Manuscriptes erschien aus der Leuberschen Klinik von Lüdke¹⁾ eine Arbeit, die sich mit dem Nachweis von Antituberkulin beschäftigt und in der über Versuche berichtet wird, die im Anschluss an eine von uns veröffentlichte vorläufige Mittheilung (Deutsche med. Wochenschr. 1906. S. 645. Sitzung des Vereins f. innere Med., Berlin vom 19. 3. 06) über die vorliegenden Untersuchungen angestellt wurden. Lüdke immunisirte mehrere Kaninchen mit Deuteroalbumose und fand, dass das Serum der so vorbehandelten Thiere in Dosen, in denen es vorher ohne Einfluss auf die Deuteroalbumose blieb, später diese zur Complementbindung befähigte. In Uebereinstimmung mit unseren beim Wittepepton und der Hemialbumose erzielten Ergebnissen gelangt Lüdke für die Deuteroalbumose zu dem Schluss, dass nach wiederholten Injectionen von Deuteroalbumose im Serum von Kaninchen „hemmende“ (d. h. complementbindende) Stoffe auftreten. Eine längerwährende oder excessive Anhäufung von Antikörpern findet jedoch nicht statt.

Literatur.

1. Klein, Zur Frage der Antikörperbildung. Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 29.
2. Jacoby, Hofmeister's Beiträge. Bd. 1.
3. Obermeyer und Pick, Ueber die chemischen Grundlagen der Arteigenschaften der Eiweisskörper. Bildung von Immunpräcipitinen durch chemisch veränderte Eiweisskörper. Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 12.
4. Obermeyer und Pick, Wien. klin. Rundschau. 1902. No. 15; sowie Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 10
5. Michaelis und Oppenheimer, Ueber die Immunität gegen Eiweisskörper. Arch. f. Anatom. u. Physiol. Physiolog. Abtheil. Supplem. 1902. S. 336. — L. Michaelis, Untersuchungen über Eiweisspräcipitine. Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 21. (Verein f. inn. Med.)

1) Beiträge zur Klinik der Tuberkulose. 1907. Bd. VII. H. 1.

6. Rostoski, Ueber Albumosen und Peptonpräcipitine. Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg. 1902.
7. Sacconaghi, Ueber die Präcipitine der Verdauungsproducte. Zeitschr. f. klin. Med. 1904. Bd. 51.
8. P. Th. Müller, Centralbl. f. Bakteriolog. I. Abth. Orig. 1902. Bd. 32.
9. Fleischmann, Ueber die präcipitogene Eigenschaft tryptinverdauten Rinderserums. Zeitschr. f. klin. Med. 1906. Bd. 59.
10. Bordet und Gengou, Substances sensibilisatrices dans les sérums. Annales de l'Institut Pasteur. 1901. Bd. XV. p. 289.
11. Gengou, Sur les sensibilisatrices contre les substances albuminoïdes. Ann. de l'Institut Pasteur. 1902. Bd. XVI. p. 734.
12. Wilde, Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 34 und Arch. f. Hyg. Bd. 40. H. 1.
13. v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 20.
14. v. Lingelsheim, Zeitschr. f. Hygiene. 1903. Bd. 42.
15. Wendelstadt, Ueber die Einwirkung von Glykogen auf hämolytische Vorgänge. Centralbl. f. Bact. Orig. 1903. Bd. 34.
16. Wassermann und Bruck, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 12.
17. J. Citron, Ueber natürliche und künstliche Aggressine. Centralbl. f. Bact. 1906. Bd. 41.
18. Landsteiner und Stankovic, Ueber die Bindung von Complement durch suspendirte und colloid gelöste Substanzen. Centralbl. f. Bacteriol. Orig. 1906. Bd. 42. H. 4.
19. Uhlenhuth, Sitzungsber. d. Freien Vereinig. f. Mikrobiolog. 1906. Centralbl. f. Bact. Bd. 38. Referate S. 36, sowie Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 31.
20. Moll, Hofmeister's Beiträge. Bd. 6.
21. Schütze, Zur Kenntniss der Präcipitine. Festschrift für v. Leyden.
22. Kutscher, Zur Kenntniss der ersten Verdauungsproducte des Eiweisses. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1897. Bd. 23.
23. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 5. S. 136.
24. Ch. Inagaki, Ueber den chemischen Mechanismus der Eiweissassimilation. Zeitschr. f. physiol. Chem. 1907. Bd. 50. S. 449.
25. Pollitzer, Ueber den Nährwerth einiger Verdauungsproducte des Eiweisses. Pflüger's Archiv. 1885. Bd. 37.
26. v. Gerlach, Die Peptone in ihrer wissenschaftlichen und practischen Bedeutung. Hamburg u. Leipzig bei Leop. Voss. 1891.
27. Alex. Ellinger, Ernährungsversuche mit Drüsenpepton. Zeitschr. f. Biologie. 1896. Bd. 33.
28. Blum, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1900. Bd. 30.
29. v. Leube, Ueber extrabuccale Ernährung. Die Deutsche Klinik am Ende des 20. Jahrhunderts von v. Leyden u. Klemperer. 1903. Bd. 1. S. 70.
30. Umber, Fortschritte der Eiweisschemie und ihre klinische Bedeutung. Ebendas. S. 598.