XXIII.

Aus der med. Universitätsklinik in Straßburg i. E.
(Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Moritz.)

Über den Einfluß des Cholesterins auf die Seifenhämolyse.

Von

Dr. Wilh. Meyerstein, Assistentarzt der Klinik.

Faust und Tallqvist¹⁾ konnten aus Bothriocephalusleibern die Ölsäure bzw. ihren Cholesterinester als hämolysierende Substanz isolieren und betrachten diese als ursächliches Moment für die Entstehung der Bandwurmanämien. Reicher²⁾ ist geneigt, auch die andern Formen der perniziösen Anämien als durch ähnliche Lipotide bedingt anzusehen. Da nun die hämolysierenden Lipotide eine enge Verwandtschaft mit dem Cobralecithin zeigen und diesem gegenüber in seiner hämolysierenden (Kyes u. Sachs)³⁾ wie auch in seiner anämisierenden Wirkung (Morgenrot u. Reicher)⁴⁾ sich das Cholesterin als Antagonist erweist, so versuchte Reicher²⁾ bei perniziösen Anämien durch Darreichung von Cholesterin einen therapeutischen Effekt zu erzielen.

Ob aber tatsächlich auch die Ölsäure bzw. ihre Verbindungen, die ja nach Faust u. Tallqvist für die Bandwurmanämie eine ätiologische Bedeutung besitzen, sich in ihrer hämolysierenden Wirkung durch das Cholesterin beeinflussen läßt, darüber sind die Verhältnisse noch nicht geklärt.

Zwar geben Isovesko u. Foucaud⁵⁾ an, daß Lösungen von Na. olein., die Cholesterin enthielten, nicht mehr hämolysierten, doch geht aus den Untersuchungsergebnissen von Kurt Meyer⁶⁾

1) Archiv f. exper. Path. u. Pharm. 1907. Bd. 57.

2) Berl. klin. Wochenschr. 1908. Nr. 41 und 42.

3) Berl. klin. Wochenschr. 1904. Nr. 2—4.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 38.

5) Comptes rendus. de la Société de Biologie. 1908, Bd. 64, Seite 677.

6) Archiv für Hygiene. 1908. Bd. 65.

hervor, daß der einfache Zusatz von Cholesterin zur Seifenlösung die hämolytische Wirkung nicht aufhebt.

Bei der Nachprüfung benutzte ich wie Meyer die Merckschen Präparate und konnte in Anlehnung an seine Versuchsanordnung zunächst sein Resultat bestätigen.

Tabelle I.

0,05 % Natr. olein in phys. Kochsalzlösung gelöst	1 % Cholesterin suspend. in phys. Kochsalzl.	5 % Emulsion mehrfach gewaschener Hammel-Erythrozyten	
0,05 cem = 0,025 mg NaCl	—	1 cem	0
0,1 cem = 0,05 mg NaCl	—	do.	kompl. Hämolyse
0,1 cem	0,1 cem	do.	do.
do.	0,2 "	do.	do.
do.	0,5 "	do.	do.

Die Hammelblutemulsion wurde in der Weise hergestellt, daß ein bestimmtes Quantum defibrinierten Blutes mehrfach gewaschen und schließlich auf das 20fache des ursprünglichen Volumens gebracht wurde.

Die Röhrenchen wurden mit physiol. Kochsalzlösung sämtlich auf 3 cem aufgefüllt, und die Ergebnisse nach 3stündigem Verweilen der Röhrenchen im Brutschrank festgestellt.

Wenn jedoch der zeitliche Ablauf kontrolliert wurde, so zeigte sich, daß der Cholesterinzusatz doch nicht ohne Wirkung geblieben war, wie aus dem Vergleich der beiden nachstehenden Tabellen (II u. III) hervorgeht.

Tabelle II.

0,05 % Natr. olein	5 % Hammel-Eryth.	Hämolyse	Nach
0,1 cem	1 cem	komplett	125 Min.
0,2 "	do.	do.	45 "
0,3 "	do.	do.	25 "
0,4 "	do.	do.	15 "
0,5 "	do.	do.	10 "

Tabelle III.

0,05 % Natr. olein	1 % Cholesterin	5 % Hammel-Eryth.	Hämolyse	Nach
0,1 cem	0,1 cem	1 cem	komplett	200 Min.
0,2 "	do.	do.	do.	120 "
0,3 "	do.	do.	do.	80 "
0,4 "	do.	do.	do.	45 "
0,5 "	do.	do.	do.	35 "

Wurde das Cholesterin zunächst zur Seifenlösung gegeben und erst nach einer gewissen Zeit die Blutkörperchen zugefügt, so zeigte sich, daß mit steigenden Zeiten die Verzögerung des Eintritts der Hämolyse wuchs, während ein vermehrter Zusatz von Cholesterin ohne erhebliche Wirkung blieb.

Eine vollkommene Aufhebung der Hämolyse aber wurde erreicht, wenn nach Zufügung des Cholesterins (und der zur Auffüllung notwendigen Koehsalzlösung) das Cholesterinseifengemisch aufgeköcht wurde. Die Blutkörperchen wurden nach erfolgter spontaner Abkühlung der Röhrchen eingebracht.

Selbst nach 12 Stunden war keine Spur von Hämolyse eingetreten (s. Tab. IV).

Tabelle IV.

0,05% Natr. olein	1% Cholesterin	5% Hammel-Eryth.	Hämolyse
gekocht			
0,1 cem	—	1 cem	komplett
0,1 "	0,1 cem	do.	0
0,2 "	do.	do.	0
0,3 "	do.	do.	0
0,4 "	do.	do.	0
0,5 "	do.	do.	0

Dieses Resultat wurde auch dann erzielt, wenn eine größere Quantität der entsprechenden Cholesterinseifen-Mischung nach dem Aufkochen abgesaugt wurde, wobei eine beträchtliche Menge Cholesterin auf dem Filter zurückblieb.

Diese hemmende Wirkung des Cholesterins könnte auf zwei Momenten beruhen. Entweder ist Cholesterin in Lösung gegangen und das gelöste Cholesterin schützt als solches direkt oder durch primäre Einwirkung auf die roten Blutkörperchen diese vor der Auflösung durch die Seife oder das Cholesterin hat sich an die Seife angelagert und die entstandene Verbindung wirkt nicht mehr hämolytisch.

Trifft die letzte Annahme zu, so muß in Betracht gezogen werden, daß Faust u. Tallqvist¹⁾ gezeigt haben, daß die Anlagerung von Cholesterin an die Ölsäure keinen Einfluß auf die hämolytische Wirkung ausübt, daß vielmehr der Cholesterin-Ölsäureester stark hämolytisch wirkt. Allerdings wäre denkbar, daß die Anlagerung des Cholesterins an eine andere Stelle des Moleküls diese Wirkung der Ölsäure bezw. ihres Salzes aufzuheben imstande ist.

1) l. c.

Da es durch Extraktionsversuche mit Äther nicht gelang, aus dem Seifencholesteringemisch eine Substanz zu isolieren, die sich einerseits vom Na. oleicum anderseits vom Cholesterin unterschied, so wurde versucht, durch Ermittlung der quantitativen Verhältnisse die angeregten Fragen zu klären.

Es konnte festgestellt werden, daß 0,05 Proz. Natr. olein. in physiol. Kochsalzlösung recht beträchtliche Mengen Cholesterin, nämlich 0,18 Proz. beim mehrfachen Aufkochen zu lösen imstande ist. Andererseits zeigte sich, daß 0,05 Proz. Cholesterin noch nicht, wohl aber 0,1 Proz., also doppelt soviel als Seife in der Lösung vorhanden ist, hinreichen, um die Blutkörperchen vor der Hämolyse zu schützen.

Beruhet nun dieser Schutz darauf, daß beim Aufkochen der Seifenlösung eine Anlagerung des Cholesterins stattfindet, so muß bei Hinzufügung einer bestimmten lösenden Dosis Seife zu einer Cholesterin-Seifenlösung, auch wenn diese einen Überschuß von Cholesterin enthält, die Hämolyse ungehindert auftreten. Tatsächlich ergab sich aber folgendes Resultat. (Tab. V).

Tabelle V.

Natr. olein 0,05 ‰ + Cholesterin 0,15 ‰	Seife 0,05 ‰	5 ‰ Hammel- Blut	Hämolyse	Nach
0,2	0,2	1	komplett	120 Min.
0,4	0,2	1	do.	4 St.
0,6	0,2	1	0	6 "
0,8	0,2	1	0	6 "
1,0	0,2	1	0	6 "

Eine einfache rechnerische Überlegung ergibt, daß in den Röhrchen, in denen keine Hämolyse mehr eintrat, mindestens die doppelte Menge Cholesterin, die wie oben gesagt, zum Schutze notwendig ist, tatsächlich vorhanden war. Der Schutz gegen die neu hinzugefügten 0,2 ccm Seife trat aber ein, ohne ein nochmaliges Aufkochen, so daß also auf diese Weise die Möglichkeit einer beim Aufkochen erfolgenden Anlagerung ausgeschlossen werden konnte.

Zwar ist der Einwand noch möglich, daß beim ersten Aufkochen eine Verbindung entstanden sei, die als solche wiederum gegen die neu hinzugefügte Seife schützt. Dagegen aber spricht folgender Versuch.

Zu steigenden Mengen einer Cholesterinseifenlösung, welche die gerade schützende d. h. doppelte Menge Cholesterin enthielt, wurden

ebenfalls je 0,2 cem reine 0,05 proz. Seifenlösung hinzugefügt. Hier trat nun die Hämolyse ungehindert (wenig verspätet) und zwar in allen Röhren annähernd gleichzeitig auf.

Damit scheint erwiesen, das gelöstes Cholesterin es ist, das die schützende Wirkung ausübt. Es blieb noch zu untersuchen, ob der Schutz etwa in der Weise stattfindet, daß das Cholesterin auf die roten Blutkörperchen direkt einwirkt, sie irgendwie festigt. Es wurde eine größere Menge einer Emulsion von gewaschenen Blutkörperchen mit einer nicht mehr lösenden Cholesterinseifenmischung zusammengebracht und ca. 12 Stunden im Brutschrank gehalten, dann abzentrifugiert und mehrfach gewaschen. Die hinzugefügte Seife bewirkte dann bei den Blutkörperchen ebenso schnell die Hämolyse wie bei einer entsprechenden Kontrollemulsion.

Aus alledem darf man wohl schließen, daß das Cholesterin vor der Seifenhämolyse dadurch schützt, daß es die Seife von den Lipoiden der roten Blutkörperchen gewissermaßen ablenkt.

Unter diesem Gesichtspunkte wurde weiterhin versucht, ob sich durch andere Lipoide ein ähnlicher schützende Effekt erzielen lasse. In der Tat gelang es, wie noch ausführlicher berichtet werden soll, mit einer Anzahl Substanzen, wie Kephalin, Cerebrosid, ja angedeutet auch mit Fettsäureseifen selbst, wie stearinsaurem Natron, einen Schutz gegen die Ölsäure-Seifenhämolyse zu erzielen. Interessant war dabei die Beobachtung, daß einzelne Körper (stearinsaures Natron, Kephalin) in einer gewissen Konzentration selbst hämolysierten, wenn sie aber mit einem andern hämolysierenden Lipoid zusammentrafen, keine Addition dieser Wirkungen, sondern im Gegenteil eine gegenseitige Abschwächung eintrat. Das aber darf wohl ähnlich, wie es oben für das Cholesterin gegenüber der Ölsäurehämolyse geschah, im Sinne einer physikalischen Beeinflussung gedeutet werden.