Aus dem Königlichen Institut für experimentelle Therapie
in Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. P. Ehrlich.)

Ueber das Zusammenwirken normaler und immunisatorisch erzeugter Ambozeptoren bei der Hämolyse.

Von Dr. Hans Sachs.

In No. 1 dieser Wochenschrift haben Pfeiffer und Friedberger¹⁾ über höchst interessante Beobachtungen berichtet, welche die antibakteriolytische Wirkung normaler Sera betreffen. Sie haben nämlich festgestellt, daß normale Sera, die an und für sich keine antilytische Fähigkeit besitzen, eine solche erlangen, wenn man sie vorher mit Bakterien digeriert. Und, was zunächst besonders merkwürdig erscheint, die Sera werden nach der Vorbehandlung mit Bakterien spezifisch antilytisch in dem Sinne, daß ein mit Cholerabakterien ausgefälltes Serum nur die Bakteriolyse der Cholerabakterien hemmt, ein mit Typhusbakterien ausgefälltes Serum ausschließlich Typhusbakterien vor der Bakteriolyse schützt.

Wie ist ein derartiges Verhalten zu erklären? Antilytische Substanzen des Serums können bekanntlich nach unseren bisherigen Erfahrungen Antiambozeptoren oder Antikomplemente sein. Antiambozeptoren sind nach dem gesamten von Pfeiffer und Friedberger erbrachten Tatsachenmaterial ohne weiteres auszuschließen. Aber auch bezüglich der Auffassung der hemmenden Substanzen als Antikomplemente glauben sich Pfeiffer und Friedberger ablehnend verhalten zu müssen, und so bleibt für sie nur die Möglichkeit, daß es sich um neue, bisher unbekannte Körper handelt.

Wenn wir die mitgeteilten Versuche überblicken, so scheinen uns zunächst zwei Erklärungsmöglichkeiten gegeben zu sein. Entweder die fraglichen Antilytine sind Antikomplemente und müssen dann im nativen Serum durch normale Serumbestandteile, welche durch die Digestion mit den Bakterien entfernt werden (Ambozeptoren), verdeckt sein, oder aber es könnten durch die Vorbehandlung mit Bakterien deren Rezeptoren frei ins Serum gelangt sein und dort als Antiambozeptoren fungieren, eine Möglichkeit, auf die bereits Besredka²⁾ hingewiesen hat. Die letztere Annahme würde die spezifische Wirkung der Antilytine ohne weiteres erklären, allerdings dem von Pfeiffer und Friedberger erbrachten Nachweis gegenüber, „daß es möglich ist, aus einer Mischung des hemmenden Serums mit Immunserum durch nachträglichen Bakterienzusatz die Ambozeptoren wieder herauszuziehen“, schwerwiegenden Bedenken begegnen.

Müssen wir so die Erklärung der von Pfeiffer und Friedberger erhobenen, die Bakteriolyse betreffenden Befunde offen lassen, so möchte ich über analoge Erscheinungen berichten, die mir bei der Nachprüfung der Pfeiffer-Friedbergerschen Beobachtungen an hämolytischen Seris begegneten und deren Analyse durch die übersichtlicheren Verhältnisse des Reagensglasversuches erleichtert war. Als Blutarten benutzte ich Hammel- und Schweineblut, welche durch die entsprechen-

den Immunsera¹⁾ unter Benutzung von Meerschweinchen Serum als Komplement gelöst wurden.

Beide Kombinationen werden durch inaktives normales Kaninchenserum nicht gehemmt, digeriert man aber letzteres mit Hammelblut, resp. Schweineblut, so gewinnt es antilytische Eigenschaften, und zwar derart, daß das mit Hammelblut digerierte Serum nur die Hämolyse des Hammelbluts, nicht aber diejenige des Schweinebluts hemmt und das mit Schweineblut behandelte Serum sich umgekehrt verhält.

Folgendes Versuchsbeispiel zeigt das beschriebene Verhalten: Es wurden je 10 ccm inaktives Kaninchenserum mit den Sedimenten von je 10 ccm Hammel- resp. Schweineblut eine Stunde bei 37° digeriert und darauf das Serum durch Zentrifugieren von den Blutkörperchen getrennt. Die derart erhaltenen Abgüsse wurden ebenso wie das native Kaninchenserum in absteigenden Mengen mit der immer gleich bleibenden Quantität (0,1) aktiven Meerschweinchen-Serums $\frac{1}{2}$ Stunde digeriert, darauf erfolgte der Zusatz von je 1 ccm 5% Blutauflösung und von der entsprechenden Menge (etwa $\frac{1}{2}$ Ambozeptoreinheiten) Ambozeptor.

In der folgenden Tabelle sind die beobachteten Lösungswerte notiert. Die in den Spalten A verzeichneten Röhren enthalten Hammelblut + 0,01 ccm des entsprechenden Immunserums, die unter B verzeichneten Röhren Schweineblut + 0,015 ccm des spezifischen Ambozeptors. Die Ziffern der Reihen bedeuten:

1. natives Kaninchenserum,
2. mit Hammelblut digeriertes Kaninchenserum,
3. mit Schweineblut digeriertes Kaninchenserum.

Tabelle 1.

Mengen des Kaninchen- serums ccm	A.			B.		
	1.	2.	3.	1.	2.	3.
1,0		0				0
0,5		0				0
0,25		0				0
0,15		Spürchen				0
0,1		wenig				0
0,05		mäßig				Spürchen
0,025		fast kompl.				wenig
0,015		kompl.				mäßig
0,01		"				stark
0		"				kompl.

Die Tabelle zeigt in klarer Weise das den Pfeiffer-Friedbergerschen Beobachtungen entsprechende Phänomen, daß nämlich das an und für sich nicht antilytische Kaninchenserum durch Vorbehandlung mit entsprechenden Blutarten spezifisch antilytisch wird. Daß diese antilytische Wirkung nicht gegen die Ambozeptoren gerichtet ist, war ohne weiteres festzustellen. Mischt man nämlich zuerst Ambozeptor und Hemmungsserum, digeriert dann mit diesem Gemisch die Blutkörperchen und zentrifugiert ab, so erweisen sich die Blutkörperchensedimente der hämolytischen Wirkung des Komplements zugänglich. Der Ambozeptor kann also nicht beeinflusst worden sein. Man würde nach dieser Differenzierung dem Stande unseres bisherigen Wissens gemäß von Antikomplementen sprechen, deren Verständnis zunächst nur die Spezifität der Wirkung im Wege steht. Aber steht denn diese mit der Annahme von Antikomplementen in der Tat im Widerspruch? Ich glaube, daß in unserem Fall Schwierigkeiten, die fraglichen antilytischen Stoffe als Antikomplemente aufzufassen, nicht bestehen, und möchte dafür die folgenden Belege anführen:

Man kann sich zunächst sehr leicht davon überzeugen, daß das nach der Digestion mit einer Blutart (in unserem Falle Hammelblut) erfolgende Erscheinen der hemmenden Wirkung des Serums lediglich durch die Absorption der normalen, auf Hammelblut wirkenden Ambozeptoren bedingt ist. Läßt man die normalen Ambozeptoren isoliert mit in Reaktion treten, so bleibt die antilytische Wirkung des Hemmungsserums aus.

Ich verfuhr zur Demonstration dieser Tatsache in der Weise, daß ich Gemische des durch Vorbehandlung des Kaninchenserums

1) R. Pfeiffer und E. Friedberger, Ueber antibakteriolytische (antagonistische) Substanzen normaler Sera. Deutsche medizinische Wochenschrift 1905, No. 1.
2) Besredka, Referat über die Pfeiffer-Friedbergersche Arbeit im Bulletin de l'Institut Pasteur 1905, T. III, No. 4, S. 165.

1) Zur Hämolyse des Schweinebluts diente ein vom Kaninchen durch Vorbehandlung mit Schweineblut gewonnenes Immunserum, zur Hämolyse des Hammelbluts ein gleichfalls vom Kaninchen durch Immunisierung mit Ochsenblut gewonnenes Serum, welches nach den Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth (Berliner klinische Wochenschrift 1901, No. 21 und 22) auch auf Hammelblut hämolytisch wirkt.

mit Hammelblut entstandenen Hemmungserums mit Komplement (0.1 ccm Meerschweinenserum) auf Hammelblutkörperchen wirken ließ, die einerseits mit Immunserum sensibilisiert, andererseits aber außerdem noch mit normalem Kaninchenserum vorbehandelt waren. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle notiert.

In Kolumne I diente als Reagens je 1 ccm 5% mit 0,002 ccm eines vom Kaninchen durch Ochsenblutinjektion gewonnenen Immunserums sensibilisiertes Hammelblut.

In Kolumne II war das Hammelblut zunächst in der gleichen Weise vorbehandelt, sodann mit 0,5 ccm normalen Kaninchenserums digeriert und durch Zentrifugieren von der Serumflüssigkeit befreit.

Tabelle 2.

Mengen des mit Hammelblut digerierten Kaninchenserums ccm	I	II
1.0	0	komplett
0.5	0	
0.25	0	
0.15	Spürchen	
0.1	sehr wenig	
0	komplett	

Wie die Tabelle zeigt, wird also durch die Mitwirkung der normalen Ambozeptoren des Kaninchenserums die antilytische Wirkung wieder aufgehoben, und damit ist das Fehlen der hemmenden Funktion im nativen Serum ohne weiteres erklärt. Die hemmenden Antikörper sind im nativen Kaninchenserum bereits vorhanden und werden darin nur durch die gleichzeitig mitwirkenden normalen Ambozeptoren verdeckt. Der Versuch zeigt zugleich, daß beim Digerieren des Serums mit den Blutzellen nicht etwa ein Herausreißen der Rezeptoren durch die normalen Ambozeptoren stattfindet, deren Kombination in der Serumflüssigkeit ja übrigens auch im Sinne von Antikomplementen wirken müßte. Wie aus Kolumne II ersichtlich, werden aber die normalen Ambozeptoren von den Blutkörperchen gebunden. Aus dem beschriebenen Verhalten müssen wir weiter schließen, daß das Fehlen der antilytischen Wirkung im nativen Serum nur ein scheinbares ist. Die Hämolyse des Hammelblutes durch Immunserum wird zwar gehemmt, dafür aber treten die normalen Ambozeptoren des Kaninchenserums in Aktion und bewirken vereint mit dem Komplement des Meerschweinchen-serums die Hämolyse. So erklärt sich in zwangloser Weise die Spezifität der Erscheinung. Das mit Hammelblut digerierte Kaninchenserum hat die Ambozeptoren für Hammelblut verloren, enthält aber noch diejenigen für Schweineblut. Es hindert daher nur die Hämolyse des Hammelblutes durch Immunserum. Umgekehrt verhält es sich natürlich, wenn mit Schweineblut absorbiert wird.

Mit dieser Begründung der Spezifität läßt sich nun die Auffassung der Hemmungskörper als Antikomplemente sehr leicht vereinigen. Es muß sich nur um Antikomplemente handeln, welche spezifisch wirken, in dem Sinne, daß sie bei geeigneter Versuchsanordnung nur die immunisatorisch erzeugten und nicht die normalen Ambozeptoren vor dem Herantritt des Komplements hindern. Das könnte wohl dadurch veranlaßt sein, daß die Aktivierung der normalen und künstlich erzeugten Ambozeptoren durch verschiedene Komplemente besorgt wird. Einfacher aber erscheint es, den Vorgang in der Weise aufzufassen, daß wir den normalen Ambozeptoren eine größere Avidität ihrer komplementophilen Gruppen vindizieren. Ein derartiger Aviditätsunterschied zugunsten der normalen Ambozeptoren könnte vielleicht zunächst auffallend erscheinen, ist es aber in Wirklichkeit nicht. Zwar kann man in der Regel von einer größeren Avidität der immunisatorisch erzeugten Ambozeptoren sprechen, aber diese höhere Avidität bezieht sich ausschließlich auf die cytophile Gruppe, durch deren Besetzung die Immunitätsreaktion ja ausgelöst worden ist. Was aber die normalen Ambozeptoren anlangt, so spricht schon ein anderer Umstand für die große Avidität ihres komplementophilen Apparates. Die Antikomplemente sind ja, wie bereits Ehrlich und Morgenroth¹⁾ hervorgehoben haben, nichts anderes als ins Blut gelangte Ambozeptoren. Die künstlich erzeugten Anti-

komplemente sind danach Ambozeptoren, die sich von den durch Zellen ausgelösten nur dadurch unterscheiden, daß ihre Abstoßung durch die Besetzung der komplementophilen Gruppen erfolgt ist. Bei diesem Entstehungsmodus wird natürlich eine Auslese der avidesten komplementophilen Gruppen stattgefunden haben, was sich eben dann in der höheren Avidität der Antikomplemente äußert.

Da nun erfahrungsgemäß die normalen Sera so reichliche Antikomplementfunktionen ausüben, wird man annehmen müssen, daß die normalen Ambozeptoren, die ja in Scharen im Blute kreisen, im allgemeinen eine hohe Avidität zum Komplement besitzen, durch welche sie befähigt sind, das Komplement von dem im gegebenen Falle zur Wirkung gelangenden Ambozeptor abzulenken. Ob der Ambozeptor als solcher oder als Antikomplement zur Wirkung gelangt, wird natürlich im allgemeinen davon abhängen müssen, ob er auf die gegebene Zellart paßt oder nicht. Jedenfalls entspricht die Antikomplementwirkung in dem hier erörterten Sinne ganz der Neißer-Wechsberg'schen Komplementablenkung durch überschüssigen Ambozeptor.

Wenn wir auf Grund dieser Betrachtungen zu dem uns hier beschäftigenden Problem zurückkehren, so gelangen wir zu einer zwanglosen Deutung der mitgeteilten Erfahrungen. Eine kleine schematische Skizze dürfte die Verhältnisse anschaulicher machen.

Fig. 1. Fig. 2.
ia immunisatorisch erzeugter Ambozeptor, na normaler Ambozeptor, ac als Antikomplemente wirkende normale Ambozeptoren, c Komplement.

Figur 1 entspricht der Wirkung des nativen Kaninchenserums auf die Hämolyse von sensibilisiertem Hammelblut durch Meerschweinchenkomplement. Die Hammelblutkörperchen sind mit dem immunisatorisch erzeugten Ambozeptor (ia) beladen. Der auf Hammelblut passende Ambozeptor des normalen Kaninchenserums (na) ist gleichfalls von der Zelle verankert und hat sich des Komplements bemächtigt.¹⁾

In Figur 2 hat das normale Kaninchenserum durch Digestion mit Hammelblut seine für Hammelblut passenden Ambozeptoren verloren. Es treten nun die freien, als Antikomplemente wirkenden normalen Ambozeptoren (ac) in Aktion, indem sie das Komplement von dem immunisatorisch erzeugten Ambozeptor (ia) ablenken.

Daß neben den Aviditätsverhältnissen auch dem Gesetz der Massenwirkung eine gewisse Bedeutung zukommt, ist ja selbstverständlich. So kann es vorkommen, daß, wenn einer sehr geringen Menge normaler an die Zelle verankerter Ambozeptoren eine große Schar freier Antikomplemente gegenübersteht, eine Komplementablenkung eintritt. Bei der Wirkung der nativen normalen Sera kommt ein solches Mißverhältnis nicht in Betracht, da ja mit der Steigerung der Antikomplemente auch die auf die Zelle passenden Ambozeptoren vermehrt werden. Dagegen kann bei einer minimalen Sensibilisierung der Blutkörperchen und Anwendung großer Mengen des Hemmungsserums eine geringe antilytische Wirkung eintreten. Trägt man aber den Mengenverhältnissen Rechnung und sensibilisiert die Blutkörperchen mit einer entsprechenden Menge normalen Serums, so kann man das Fehlen der antilytischen Wirkung gegenüber dem normalen Ambozeptor ohne

¹⁾ P. Ehrlich und J. Morgenroth. Ueber Hämolyse. Fünfte Mitteilung. Berliner klinische Wochenschrift 1901, No. 10.

¹⁾ Die höhere Avidität der normalen Ambozeptoren wird zugunsten der an die Zelle gebundenen noch gesteigert werden, da ja mit der Verankerung an die Zelle in der Regel eine Aviditätserhöhung der komplementophilen Gruppe verknüpft ist.

weiteres demonstrieren. Als Ergänzung möge folgender Versuch noch angeführt sein:

Mischungen von 0,1 ccm Meerschweinchenserum und absteigenden Mengen nativen Kaninchensersums einerseits, mit Hammelblut absorbierten Kaninchensersums andererseits wirken auf je 1 ccm 5%igen Hammelbluts, die mit je 0,5 ccm normalen Kaninchensersums sensibilisiert und abzentrifugiert sind. Die folgende Tabelle zeigt das Resultat. Die Kontrolle mit immunisatorisch erzeugtem Ambozeptor ist aus Tabelle 2, I zu ersehen.

Tabelle 3.

Mengen des Kaninchensersums	A natives Kaninchenserum	B mit Hammelblut digeriertes Kaninchenserum
ccm		
1,0	} komplett	} komplett
0,5		
0,25		
0,15		
0,1		
0		

Dafür, daß die hemmende Wirkung eine Antikomplementwirkung ist und im nativen Serum durch den normalen Ambozeptor verdeckt wird, sprechen noch eine Reihe von kasuistischen Befunden, auf die ich bei meinen Untersuchungen gestoßen bin. Eine hemmende Wirkung durch Absorption mit Blutkörperchen konnte ich nämlich nur dann nachweisen, wenn das zu untersuchende Serum von vornherein Ambozeptoren für die betreffende Blutart enthielt. Fehlten diese, so verhielt sich das Serum vor und nach der Absorption gleichartig, indem es entweder in beiden Fällen überhaupt nicht oder in gleicher Weise hemmte. So wird z. B. das normale Kaninchenserum durch Absorption mit Ochsenblut dank dem Fehlen geeigneter Ambozeptoren in keiner Weise geändert. Dem Umstand, daß es aber Antikomplemente, wie wir gesehen haben, enthält, entspricht es, daß es der Hämolyse des Ochsenblutes gegenüber schon nativ antilytische Wirkungen ausübt, an denen sich quantitativ nach Absorption mit Ochsenblut oder auch mit Hammelblut nichts ändert. Besonders demonstrativ ist in dieser Hinsicht das individuell schwankende Verhalten des Kaninchensersums gegenüber Hammelblut. Ich habe nämlich auch einige Kaninchensera untersucht, denen die Ambozeptoren für Hammelblut zufälligerweise vollständig oder so gut wie ganz fehlten. Diese Sera wirkten aber schon an und für sich antilytisch gegenüber der Hämolyse des Hammelblutes und blieben es in gleicher Weise nach dem Digerieren mit Hammelblut. Schließlich möchte ich noch einen Umstand erwähnen, der die Antikomplementnatur der fraglichen Stoffe in hohem Maße wahrscheinlich macht. Während nämlich das Hemmungsserum bei der Komplettierung durch Meerschweinchenserum, wie wir gesehen haben, seine antilytische Wirkung entfaltet, bleibt diese vollständig aus, wenn als Komplement Kaninchenserum verwandt wird. Die benutzten Ambozeptoren lassen sich mit Kaninchenserum in gleicher Weise, wie mit Meerschweinchenserum komplettieren, und das Ausbleiben der antilytischen Wirkung des absorbierten Kaninchensersums bei Benutzung von Kaninchenserum als Komplement ist vom Standpunkte der Antikomplementauffassung ohne weiteres verständlich, da Autoantikomplemente in der Regel nicht vorkommen.

Ob die hier gegebene Erklärung unseres Falls auf die von Pfeiffer und Friedberger an Bakterien gewonnenen analogen Erfahrungen übertragen werden darf, wollen wir dahingestellt sein lassen. Jedenfalls wäre die Spezifität auch in den Pfeiffer-Friedbergerschen Versuchen durch die ausgeführten Erörterungen mit der Antikomplementhypothese sehr wohl vereinbar. Und daß einem gewissen Ueberschuß des Ambozeptors gegenüber die paralysierende Wirkung des Hemmungsserums versagt, steht auch in keinem Widerspruch zu der Annahme von Antikomplementen. Denn gerade bei der Wirkung der Antikomplemente spielen, wie ich früher in Gemeinschaft mit Morgenroth¹⁾ gezeigt habe, die quantitativen Beziehungen zwischen Ambozeptor, Komplement und Antikomplement eine so ausschlaggebende Rolle, daß das Ausbleiben der Hemmung bei großen Ambozeptormengen auf

ein Mißverhältnis zwischen den reagierenden Substanzen zurückgeführt werden kann. Pfeiffer und Friedberger haben endlich auch einen gewichtigen positiven Befund angegeben, der für die Antikomplementnatur ihrer antagonistischen Substanzen spricht. Es gelang ihnen nämlich, das normale Serum von Kaninchen, Ziegen und Tauben, nicht aber das vom Meerschweinchen durch Bakterienausfällung zum Hemmungsserum zu machen. Da sich nun die Bakterizidie in ihren Versuchen im Meerschweinchenperitoneum vollzieht, das Komplement also vom Meerschweinchen geliefert wird, so dürfte das negative Resultat bei Anwendung des Meerschweinchensersums als Ausdruck des Fehlens von Autoantikomplementen ein weiterer Hinweis dafür sein, daß die antagonistischen Substanzen Pfeiffers und Friedbergers vielleicht doch auch als Antikomplemente anzusprechen sind.

1) J. Morgenroth und H. Sachs, Ueber die quantitativen Beziehungen von Ambozeptor, Komplement und Antikomplement. Berliner klinische Wochenschrift 1902, No. 35.