Aus der Medizinischen Klinik der Universität in Göttingen.
(Direktor: Geheimrat C. Hirsch.)

Beitrag zur Anwendbarkeit des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens.

Von Ed. Mosbacher und Fr. Port.

Auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Hirsch hat der eine von uns (Mosbacher) in dem Physiologischen Institut zu Halle das Dialysierverfahren erlernt in der Absicht, diese Methode in der Inneren Klinik nachzuprüfen. Als Kriterium für die Beherrschung der Methode verlangt Abderhalden eine genügende Anzahl Graviditätsdiagnosen. Bevor wir nun an das eigentliche Gebiet herantraten, wollten wir dieser berechtigten Forderung Abderhaldens Genüge leisten. Ueber diesen Punkt sind wir aber, um das Resultat unserer Unter-

suchung gleich vorwegzunehmen, nicht hinausgekommen! — In Folgendem möchten wir die Gründe hierfür angeben unter Vermeidung längerer theoretischer Ausführungen.

Was die Methodik anbetrifft, so hielten wir uns — bis auf folgende Variationen — streng an die in Halle erlernten Vorschriften Abderhaldens. Da es uns wünschenswert erschien, das Verhalten jeder einzelnen Hülse bei den verschiedenen Prüfungen auf Eiweiß- bzw. Peptondurchlässigkeit verfolgen zu können, was nur bei einer Markierung der Hülsen möglich war, so numerierten wir in dem weitaus größeren Teile der Versuchsreihen die Hülsen am oberen Rande mit „flüssigem waschechten Schwarz (Leonhardi, Dresden)“ und legten sie dann einen halben Tag in fließendes Wasser und einen halben Tag in Toluol. Die restliche Farbe bleibt wochenlang unverändert. Da eine Hülse, die ganz mit dieser Tinte überzogen war, nach 16stündigem Stehen in mit Toluol überschichtetem destillierten Wasser keine ninhydrinfähigen Stoffe abgab, so haben wir ohne Bedenken diese Numerierung verwendet, zumal noch meist die Zahlen über die Toluolschichten herausragten. Wir konnten so die Hülsen gleichmäßig oft verwenden und hatten noch, da wir abwechselnd Normalserum und Gravidaserum mit und ohne Plazenta hineinbrachten, eine relative Kontrolle über ihre Durchlässigkeit.

Gekocht wurde in Reagenzgläsern, nach dem gleichen Modell, aus Jenenser Glas.

In einem Teil der Versuche wurden die Hülsen nach Hineinbringen von Serum und Organ mit destilliertem Wasser abgespült. Wir unterließen aber das Abspülen bei den letzten Versuchen, da uns das Verschießen der Hülsen mit der Hand von vornherein unrationell erschien und das von uns geübte Abklemmen durch mit Schläuchen verkleidete Pinzetten die Wand der Hülse zu arg zerquetschte. Wir ließen daher das Abspülen fort, achteten aber peinlich darauf, daß weder Organ noch Pipette die Hülsenwand berührten.

Viel wichtiger als diese unseres Erachtens belanglose Abweichung von der vorgeschriebenen Methode, die lediglich eine Erleichterung und Vereinfachung bezweckte, erscheinen uns die Modifikationen in der Hülsenprüfung, zu denen wir uns genötigt sahen, um überhaupt zu Resultaten zu gelangen.

Wir vermochten nicht, wie sehr viele andere Untersucher auch, die feinen Farbenunterschiede der Biuretkreaktion zu einer einwandfreien Prüfung der Hülsen auf Eiweißdurchlässigkeit zu verwenden. Wir nahmen daher das „Spieglerische Reagens in der Jollesschen Modifikation“. — Anfangs untersuchten wir parallel Spiegler- und Biuretkreaktion. Stets, wenn die letzte Reaktion einwandfrei positiv war — was im übrigen selten der Fall gewesen ist —, dann war es Spiegler auch mit deutlichem weißen Ring. Viele Hülsen mußten verworfen werden, weil Spiegler's Reagens einen positiven Ausschlag zeigte, während die Biuretkreaktion zweifelhaft bis negativ war. — Da aber diese Prüfung auch hier und da Resultate ergab, die schwer zu beurteilen waren, so versuchten wir die Hülsenprüfung mit Kasein nach der Angabe von Swart und Terwen.¹⁾ Und hierbei erhielten wir stets sichere Reaktionen, die mit den vielen eindeutigen Ergebnissen nach Spiegler völlig übereinstimmten. Wir haben daher in letzter Zeit nur diese Methode zur Prüfung auf Eiweißdurchlässigkeit verwendet. Hervorgehoben muß werden, daß die Vorschrift der Autoren dieser Prüfungsart, das Kasein solle höchstens auf 50° erhitzt werden, streng befolgt werden muß. Denn bei höherer Temperatur treten leicht peptonartige Spaltungsprodukte auf, die dialysieren und durch H₂SO₄ fällbar sind. Im übrigen empfiehlt es sich, die Kaseinlösung vor jeder Prüfung frisch zu bereiten. Wir konnten feststellen, daß Hülsen, die für brauchbar befunden waren, ihre Undurchlässigkeit für Eiweiß lange Zeit beibehielten.

Was die Prüfung auf Peptondurchlässigkeit betrifft, so sind wir von der Angabe Abderhaldens, 2,5 ccm einer 1% igen Lösung zu benutzen, abgekommen. Wir erhielten zu starke Farbtöne, die feine Farbenunterschiede unmöglich machten. Wir stellen uns daher 500 ccm einer 0,25% igen Lösung von Seidenpepton her und nahmen 2 ccm dieser Lösung zur Hülsenprüfung. Bei unseren 100 Hülsen ergab sich dann, wie auch schon von anderen hervorgehoben wurde, eine außerordentlich wechselnde Peptondurchlässigkeit.

Wie aus Protokoll I (s. u.) hervorgeht, zeigten Hülsen, die bei der vor dem Versuch angestellten Prüfung auf Peptondurchlässigkeit als gleich oder doch wenigstens annähernd gleich befunden worden waren, — trotz der Verwendung der gleichen Menge der gleichen Lösung, des gleichen Ninhydrins und trotz gleichmäßigen Kochens — bei nochmaliger Prüfung nach Ablesen des Versuches eine sehr verschiedene Peptondurchlässigkeit und bei abermaliger Prüfung nach drei Tagen — ohne Zwischenversuch — wieder eine andere. Wir waren deshalb nie sicher, ob die Hülsen während des Versuches ihre vorher festgestellte Peptondurchlässigkeit beibehalten hatten. Die auffallenden Ergebnisse, daß Plazenta im Doppelversuch durch das gleiche Serum verschieden stark abgebaut wurde, oder Serum allein eine stärkere Reaktion gab als Serum + Organ (s. Protokoll II und III), finden wohl durch diese wechselnde Peptondurchlässigkeit der Hülsen ihre Erklärung, die nach

¹⁾ M. m. W. 1914 Nr. 11.

unseren Erfahrungen eine große, nicht ausschaltbare Fehlerquelle der Methodik darstellt. Jeder negative Ausfall der Reaktion kann wie jeder positive durch Hülsevenfehler erklärt werden.

Trotz dieses Mißtrauens, das wir den Hülseven hinsichtlich ihrer Peptondurchlässigkeit entgegenbrachten und das sich im Laufe der Versuche immer mehr steigerte, glauben wir doch, aus unseren Versuchsergebnissen gewisse Schlüsse in bezug auf die Spezifität oder Nichtspezifität der sogenannten Abwehrfermente ziehen zu können.

Das lebenswürdige Entgegenkommen der hiesigen Frauenklinik (Prof. Dr. Jung) ermöglichte uns, die Sera von 50 Graviden — alle im siebenten bis achten Monat — zu untersuchen. Außerdem wurden Sera von 25 Männern und 25 sicher nicht-graviden Frauen, die teils ohne klinischen Befund, teils mit den verschiedensten Affektionen, wie Carcinoma ventriculi, Tuberculosis pulmonum, Diabetes, Nephritis etc. behaftet waren, verwendet. Die Sera wurden spektroskopisch geprüft. Der weitaus größte Teil der Versuche wurde mit absolut hämoglobinfreien Sera ausgeführt. Mußten wir Sera mit geringem Hämoglobingehalt verwenden, so waren doch die Resultate die gleichen wie bei den absolut hämoglobinfreien. Wir haben übrigens auch — als Kontrolle für steriles Arbeiten — den Inhalt von 12 Hülseven nach 16stündigem Stehen im Brutschrank abgeimpft, haben aber auf keiner Platte die geringste Spur von Bakterien nachweisen können.

Der Hauptversuch — Serum + Plazenta — wurde doppelt angesetzt.

Das Gesamtergebnis unserer Versuche war folgendes:

Von 50 Graviden,	25 Männern,	25 Frauen (nongravidae)
waren		
70 % +	56 % +	28 % +
20 % -	36 % -	28 % -
10 % + -	8 % + -	44 % + -

Nach den Erfahrungen, die wir mit der wechselnden Durchlässigkeit der Hülseven für Seidenpepton gemacht haben, müssen wir zugeben, daß ein Teil dieser Resultate durch sogenannte Hülsevenfehler bedingt sein kann und daß deshalb die Bewertung der Prozentzahl mit einer gewissen Reserve vorgenommen werden muß, obwohl nicht selten das Dialysat gerade der Hülseven, die sich bei der Prüfung mit Seidenpepton als relativ stark durchlässig erwiesen, bei dem Versuch: Gravidaserum + Plazenta eine schwächere Ninhydrinreaktion gab als das Dialysat des gleichzeitigen Kontrollversuches: Normalserum + Plazenta, der mit einer Hülse angesetzt war, die als weniger durchlässig für Seidenpepton anzusehen war. Es liegt daher der Gedanke nahe, ob überhaupt gleichmäßige Durchlässigkeit für Seidenpepton auch gleichmäßige Durchlässigkeit für Abbauprodukte des Plazentareiwisses bedeutet. Auf jeden Fall erscheint es uns nicht berechtigt, sämtliche Versager bei Graviden und die zahlreichen positiven Reaktionen bei Nichtgraviden und Männern auf Hülsevenfehler zurückzuführen.

Dagegen wird wohl von kompetenter Seite der Einwand gemacht werden, daß die Plazenta, mit der wir arbeiteten, nicht brauchbar war, weil sie eben schon mit dem Serum von normalen Individuen eine positive Reaktion ergab. Demgegenüber muß hervorgehoben werden, daß in einem nicht geringen Prozentsatz sowohl Gravidaserum wie Normalserum mit Plazenta keinen Abbau erkennen ließ, ein Befund, der abermals durch Hülsevenfehler erklärt werden müßte. Außerdem haben wir nicht eine, sondern vier Plazenten verwendet bzw. abwechselnd in den Versuchen vorgelegt. Eine stammte aus dem Physiologischen Institut zu Halle, zwei hatten wir selbst — strengstens nach Vorschrift — bereitet, und die letzte wurde uns von anderer Seite zur Verfügung gestellt. Die Plazenten wurden sämtlich jedesmal vor Ansetzen eines Versuches auf das Fehlen von ninhydrinfähigen Stoffen untersucht und außerdem häufig noch nach den verschärften Vorschriften Abderhaldens — aus letzter Zeit — geprüft. Ein wesentlicher Unterschied in dem Ausfall in der Reaktion zeigte sich nicht, ob wir diese oder jene Plazenta verwendeten. Jedenfalls bekamen wir bei allen Plazenten mit Normalserum sowohl positive wie negative Resultate. Dagegen erhielten wir mit Serum, das etwa eine Stunde bei 56—58° inaktiviert worden war, in mehreren Versuchen keine Spur von einer Reaktion.¹⁾

Die Plazenta, die uns von auswärts überlassen worden und besonders fein zerzupft war, wurde am leichtesten abgebaut. Es erscheint uns demnach sehr schwierig, eine Plazenta zu bekommen, die in einer größeren Versuchsreihe von Normalserum nicht abgebaut wird; uns war es jedenfalls nicht möglich, eine solche Plazenta zu finden! —

Unsere Versuche, Graviditätsdiagnosen mit Hilfe der A.R. zu stellen, scheiterten demnach an der ganz unzuverlässigen Durchlässigkeit der Hülseven für Seidenpepton und an der Unmöglichkeit, eine Plazenta zu bekommen, die nur von Gravidaserum, nicht auch von Normalserum abgebaut wurde. Ob dies unbefriedigende Resultat an den nicht ausschaltbaren Fehlerquellen der mangelhaften Methodik oder an der Nichtspezifität der Abwehrfermente oder an beiden gelegen ist, müssen wir dahingestellt sein lassen.

Jedenfalls sehen wir uns veranlaßt, von einer Anwendung der Methode bei inneren Erkrankungen vorerst Abstand zu nehmen.

Protokoll I.

Hülse	23/24	25/26	28/29	Hülse	23/24	25/26	28/29
2	+	++	+	13	+	+++	++++
3	+	+++	+	15	+	+++	++
4	+	+++	+++	16	+	++	+++
5	+	++	+++	17	+	++	+
9	+	++	(+)	19	+	+++	(+)
10	+	++	++++	20	+	+++	++++
11	+	+++	++	22	+	+	++

Protokoll II.

Hülse	1 ccm	Sera hämoglobinfrei, Organ geprüft.	0,2 Ninhydrin
1	1 ccm	Gravidaserum + Plazenta: —	do.
2	1 "	do. —	do.
3	1 "	Gravidaserum ((+))	do.
4	1 "	Gravidaserum II + Plaz. —	do.
5	1 "	do. —	do.
6	1 "	Gravidaserum II —	do.

Protokoll III.

Hülse	1 ccm	Sera hämoglobinfrei, Organ geprüft.	0,2 Ninhydrin
1	1 ccm	Gravidaserum + Plazenta: —	do.
2	1 "	do. —	do.
3	1 "	Gravidaserum —	do.
4	1 "	(Frau) Normalser. + Plazenta: —	do.
5	1 "	do. ((+))	do.
6	1 "	(Frau) Normalserum +	do.

Protokoll IV.

Hülse	1 ccm	Sera hämoglobinfrei, Organ geprüft.	0,2 Ninhydrin
1	1 ccm	Gravidaserum + Plazenta: ++	do.
2	1 "	do. +++	do.
3	1 "	Gravidaserum —	do.
4	1 "	do. —	do.
5	1 "	Inakt. Gravidaser. + Plazenta: —	do.
6	1 "	do. —	do.
7	1 "	(Mann) Serum + Plazenta +	do.
8	1 "	do. —	do.
9	1 "	(Mann) Serum —	do.
10	1 "	do. —	do.
11	1 "	Inakt. (Mann) Serum + Plaz.: —	do.
12	1 "	do. —	do.

¹⁾ S. Protokoll IV