[Aus dem hygien.-bakteriolog. Institut der Universität Erlangen.]

Über die Kenopräzipitinreaktion.

Von

Wolfgang Weichardt.

Die Unrichtigkeit der Schlußfolgerung, zu der Pfeiffer und Pregl in der vorhergehenden Arbeit kommen, daß nämlich die Kenopräzipitinreaktion eine anorganische, eine Calciumphosphatfällung sei, geht ohne weiteres aus den Ergebnissen einiger weniger Versuche hervor, die ich zunächst kurz beschreibe:

Mit HCl angesäuerte, filtrierte und wieder bis zum Alkaleszenzgrad von $\frac{1}{1000}$ n-NaOH gebrachte Stammflüssigkeit, oder wie ich sie lieber bezeichne, kenopräzipitable Substanz-Test, wurde mit hochwertiger Kenopräzipitinlösung von gleicher Alkaleszenz in Hauserschen Kapillaren zusammengebracht.

Es entstand auch dann noch Ringbildung, wenn die Stammflüssigkeit mit Wasser reichlich bis auf das 100fache verdünnt worden war.

Ein Kubikzentimeter dieses hochwertigen Kenopräzipitins wurde mit der zehnfachen Menge destillierten Wassers verdünnt, und vorsichtig tropfenweise eine 1prozentige Lösung von Ammoniumoxalat so lange zugemischt, bis in abfiltrierten Proben ein geringer aber deutlicher Überschuß von Ammoniumoxalat mittels Calciumchlorid nachgewiesen werden konnte. Die so von Calcium befreite Kenopräzipitinlösung wurde nach 12stündigem Absitzen klar filtriert und auf das ursprüngliche Volumen gebracht: Ihr Aussehen war unverändert, sie trübte sich mit destilliertem Wasser und mit $\frac{1}{1000}$ n-NaOH nicht, wohl aber trat deutliche Präzipitinringbildung ein, wenn kenopräzipitable Substanz-Test mit ihr in Kapillaren zusammengebracht wurde. Die Trübung fand auch dann noch statt, wenn die Testlösung vorher bis auf das 100fache verdünnt worden war.

Die Kontrollen ergaben, daß diese Trübung nicht auf Rechnung des geringen Gehaltes der Testlösung an Ammoniumoxalat zu beziehen war.

Somit tritt die Präzipitinbildung auch dann auf, wenn das verwendete hochwertige Kenopräzipitinpräparat durch Ammoniumoxalat von Calcium befreit worden ist.

Ein gleicher Versuch wurde mit demselben Kenopräzipitinpräparat und mit alkalisiertem, filtriertem Ermüdungsharn angestellt. Letzterer war am Abend, nach anhaltender körperlicher Anstrengung, gesammelt worden. Es trat auch hier wieder ein positives Resultat ein: noch nach 50facher Verdünnung des Urines war Kenopräzipitinreaktion deutlich nachzuweisen.

Zur kenopräzipitablen Substanz-Test, welche, wie oben beschrieben, mit HCl angesäuert, filtriert und wieder alkalisiert worden war, wurde vorsichtig eine 1prozent. Lösung von Calciumchlorid so lange zugemischt, bis abfiltrierte Proben mit Ammoniumoxalat deutlich die Anwesenheit von Calcium erkennen ließen. Nach 12stündigem Absitzen wurde die Testlösung klar filtriert und, nachdem im Filtrat nochmals geringer Calciumüberschuß nachgewiesen worden war, mit unserem, mit Ammoniumoxalat nicht behandeltem hochwertigen Kenopräzipitinpräparate geprüft. Wie zu erwarten, trat in den Kapillaren sehr schnell und reichlich Ringbildung auf, deren Vorhandensein nebst anderen auch Hr. Prof. Heim bestätigte.

Kontrollen derselben Testlösung gegen Gipswasser blieben klar.

Hiermit ist hinlänglich erwiesen, daß die angebliche Identität der Kenopräzipitinreaktion mit einer anorganischen Calciumphosphatfällung nicht zu Recht besteht. Neben anorganischen Kalkfällungen gibt es eben auch noch die spezifische, die Kenopräzipitinreaktion. Wie jeder Präzipitationsvorgang ist natürlich die Kenopräzipitation auch einer chemischen Erklärung zugänglich. Immerhin scheint es mir, faßt man den heutigen Standpunkt der Eiweißchemie ins Auge, als wäre dieses Ziel noch nicht allzu nahe.

Man muß also „bei Beurteilung von Niederschlagsbildungen in Flüssigkeiten, deren chemische Zusammensetzung nicht bekannt ist, vorsichtig sein“ und darf nicht ohne weiteres beim Fehlen quantitativer Untersuchung folgenschwere Schlüsse ziehen. Ich selbst bin gerade deshalb bei der Beurteilung der Kenopräzipitinreaktion besonders vorsichtig gewesen. Über die Natur der neuen Präzipitinreaktion habe ich mich überhaupt nicht ausgelassen. Es wurde von mir nur erwähnt, daß die Reaktion erzielt werden kann, wenn die konstitutive Struktur des Eiweißes verändert wird.

Den Namen „Kenopräzipitinreaktion“ wählte ich für den neuen Vorgang um deswillen, weil ein gewisser Parallelismus zwischen dem Entstehen des Kenotoxins und der betreffenden präzipitablen Substanz, sowie des Antikenotoxins und der präzipitierenden zweifellos besteht. Freilich nicht in dem Sinne, wie die beiden Autoren es annehmen, daß es sich um „Komponenten (??) des Ermüdungsgiftes“ handle; denn ich habe ganz besonders hervorgehoben, daß die kenopräzipitable Substanz nur ein

häufiger Begleiter, keineswegs aber ein Bestandteil des Kenotoxins ist. Daher ist auch der Schluß, aus dem Fehlen des Kenopräzipitinnachweises die Abwesenheit von Kenotoxin beweisen zu wollen, durchaus fehlerhaft, er ist zu vergleichen mit der ebenfalls abwegigen Ansicht, daß das Fehlen der Agglutininreaktion beweisend sei für das Fehlen anderer Antigene und Antikörper.

Der Beweis der Existenz des Kenotoxins kann mit Bestimmtheit nur geführt werden durch Injektionsversuche mit Kenotoxin an unvorbehandelten und an mit dem Antikörper vorher passiv immunisierten Tieren. Derartige überzeugende Versuche sind von mir und anderen in großer Anzahl ausgeführt worden. Beide Autoren gehen solchen Immunisierungen peinlichst aus dem Wege. Sie sind deshalb keinesfalls zu dem Ausspruche berechtigt, „die Existenz eines Ermüdungstoxins und seines spezifischen Antikörpers sei noch unbewiesen“.

Den Vorwurf Pregls, meine Angaben über das Kenotoxin und das Antikenotoxin wären zu allgemein gehalten, weise ich energisch zurück. Ich habe in verschiedenen Arbeiten die Herstellung beider Körper so beschrieben, daß es anderen recht wohl gelungen ist, diese beiden Substanzen nach meinen Vorschriften herzustellen.

Pregl hätte sich überhaupt die Mühe nehmen müssen, meine Arbeiten gründlicher zu lesen. Es wäre dann nicht vorgekommen, daß er mir mehrfach Vorhaltungen macht, zu denen ich nicht den geringsten Anlaß gegeben habe. Ich will nur folgendes erwähnen: Nach Pregl soll ich behauptet haben, der Harn wäre reich an einem Toxin, welches mittels eines künstlich hergestellten Präzipitins in Form eines Niederschlages zu erhalten sei. Ich habe mich vergeblich bemüht, festzustellen, aus welcher meiner Arbeiten diese doch geradezu widersinnige Ansicht herausgelesen worden ist.

Ganz verfehlt ist auch die Preglsche Eigenherstellung des Kenopräzipitins; nimmt er doch an, es müßten sich genügende Mengen von Kenopräzipitin nebenbei bilden, wenn er eine Vorschrift, die ich für Herstellung von Antikenotoxin angegeben habe, befolgt! Das ist natürlich ein Irrtum; denn selbst bei Verarbeitung von mehreren Kilogramm des Aleuronats auf Antikenotoxin bilden sich nur ganz geringe Mengen des Kenopräzipitins mit. Pregl hat also in dem von ihm selbst aus kleinen Mengen Rinderserums hergestellten Präparate zweifellos nur Spuren davon gehabt. Daher sind auch die damit erzielten Versuchsergebnisse für die Kenopräzipitinerkenntnis belanglos, um so mehr, als noch dazu ein großer ungehöriger Gipsgehalt des Präparates die Versuche erheblich störte, fälschte und ihnen von vornherein den Stempel des Anorganischen aufprägte.

Was die Frage der Dialysierbarkeit und der Thermolabilität¹ dieser Substanzen überhaupt anlangt, so habe ich zwar einige Beobachtungen über Kenotoxin und seinen Antikörper niedergelegt, nirgends aber über die etwaige kolloidale Natur und Thermolabilität der kenopräzipitablen Substanz etwas veröffentlicht. Wo findet sich in meiner Veröffentlichung die Stelle, daß das „Präzipitogen“ durch die Dialysatormembran nicht durchgehe?

Der Name Kenopräzipitogen, den ich selbst nie gebraucht habe und ganz abscheulich finde, weil er Irrtümer in bezug auf die Entstehung des Kenopräzipitins hervorrufen kann, wird mir zu Unrecht in den Mund gelegt.

Ganz verfehlt ist meines Erachtens die Wahl des Morgenurines zu beweisenden Kenopräzipitinversuchen; denn es wird verdünnter Morgenurin gesunder Individuen nun und nimmer eine echte Kenopräzipitinreaktion erkennen lassen, während Ermüdungsurin, also namentlich Abendurin, auch bei 50facher Verdünnung, mit hochwertigem Kenopräzipitin in Hauserscher Kapillare deutliche Ringbildung erkennen ließ.²

Ich verkenne nicht, daß es für ferner Stehende nicht leicht ist, in kurzer Zeit in das Gebiet der Kenotoxinforschung vollkommen einzudringen, zumal die betreffenden Veröffentlichungen in den verschiedensten Zeitschriften verstreut sind.

In Kürze werde ich übrigens alles mit der Kenotoxinforschung Zusammenhängende in einer Monographie zusammenfassen. Zunächst habe ich im „Centralblatt für Bakteriologie“ die noch nicht vollkommen geklärten Punkte experimentell beleuchtet und verweise darauf.

¹ Auf diese ganze Frage der Thermolabilität und Dialysierbarkeit hier näher einzugehen erübrigt sich, da ich in meiner demnächst erscheinenden Veröffentlichung im *Centralblatt für Bakteriologie* hierzu Stellung nehme.

² Ob die im Morgenurin auch mit dem spezifischen Kenopräzipitin veranlaßten Niederschläge lediglich anorganische, Calciumphosphatfällungen, gewesen sind, läßt sich weder behaupten noch in Abrede stellen, fehlt doch jede quantitative Untersuchung derselben!

Auf die von Pfeiffer hergestellten künstlichen Harnsubstanzen nochmals des genaueren einzugehen, liegt für mich keine Veranlassung vor. Wenn Pfeiffer die Charakterisierung dieser Stoffe mittels eines Antikörpers durchzuführen nicht imstande gewesen ist, so kann meines Erachtens nur deren chemische Definierung zum Ziele führen. Weitere längere „Erwägungen“ über diese Verhältnisse anzustellen, ist mangels exakter experimenteller Grundlagen zurzeit müßig.