von hoher innerer Reibung, in welchem ein erheblicher Anteil des Wassers bereits als Hydrationswasser anzunehmen ist. Alle die genannten Ursachen machen es vor Anstellung weiterer Versuche unmöglich, über den Verlauf der α -Werte in unserm speziellen Fall theoretische Betrachtungen zu pflegen.

Mit Hilfe des α -Mittelwertes haben wir die Viskosität der Suspensionen nach der Formel

$$\eta_s = \frac{\eta}{1 - \alpha K}$$
 zurückberechnet. Die erhaltenen Zahlen sind in der Tabelle II verzeichnet und in Figur 1 durch kleine Dreieckchen kenntlich gemacht. Mit Ausnahme der letzten Messung ist die Uebereinstimmung zwischen Beobachtung und Berechnung eine sehr befriedigende. Besonders der Kurvenbeginn wird sehr gut durch die Heß'sche Gleichung dargestellt, aber selbst bei den höheren Konzentrationen ist die Uebereinstimmung noch eine gute. Lediglich der letzte Wert fällt gänzlich heraus. Bedenken wir, daß die Heß'sche Beziehung, wie der Autor selbst betont, nur unter bestimmten Voraussetzungen gilt und schon mit Rücksicht darauf, daß α sich mit der Konzentration ändert, nicht einen allzu großen Konzentrationsbereich umfassen kann, so können wir um so zufriedener sein, daß die genannte Beziehung auch für die Viskositäts-Konzentrationsfunktion derart kom-

pliziert zusammengesetzter Systeme, wie wir sie in Händen hatten, befriedigend zutrifft.

Zusammenfassung:

1. Die Viskositäts-Konzentrationsfunktion kompliziert zusammengesetzter polydisperser Systeme (Mehl-Wassermischungen) läßt sich durch die empirisch ermittelte Gleichung

$$\eta_s = \eta_0 (1 + k \cdot f + k_1 \cdot f^n)$$

darstellen, worin η_s die Viskosität der Suspension, η_0 die des Wassers ($=1$), f das Volumenverhältnis von disperser Phase zu Gesamtvolumen, k , k_1 und n Konstanten bedeuten. Die Gleichung ist formal und genetisch der von Wo. Ostwald und K. Mündler für den osmotischen Druck von Dispersoiden gefundenen ähnlich.

2. Fernerhin wird die Viskositäts-Konzentrationsfunktion der genannten Systeme in befriedigender Weise durch die von W. R. Heß theoretisch abgeleitete Beziehung

$$\eta_s = \frac{\eta}{1 - \alpha K}$$

dargestellt, wobei η_s die Viskosität der Suspension, η die des Dispersionsmittels, K das in der Volumeneinheit enthaltene Volumen an disperser Phase und α den Zusatzfaktor, der zum funktionellen Volumen führt, darstellen.

Technische Hochschule, München.

Kolloidchemische Wirkungen der Salze seltener Erden und ihre Beziehungen zu den Flockungsreaktionen der Antikörper.

Von R. Doerr.

(Eingegangen am 20. August 1930.)

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Basel. Vorsteher: Prof. R. Doerr.)

Menschen- und Meerschweinenserum vom Kaninchen liefern ein Reaktionsgemisch, welches bei einem genügenden Gehalt an Elektrolyten (NaCl) einen Teil seiner im Solzustand befindlichen artspezifischen Globuline als Gel, d. h. in Form eines lockeren, weißlichen Niederschlages abscheidet. Vermöge seiner Zusammensetzung aus Globulinen ist dieser Niederschlag in destilliertem Wasser unlöslich; er löst sich aber auch nicht in einprozentigem NaCl, ganz im Sinne der herrschenden Auffassung, nach welcher es gerade der Elektrolyt ist, welcher die Ausflockung der Eiweißkolloide bedingt, sobald diese infolge der vorausgegangenen Bindung zwischen Präzipitinogen und Präzipitin ihre Stabilität eingebüßt und sich in ihrer Empfindlichkeit gegen fallende Salze dem Verhalten

hydrophober Kolloide angenähert haben. In $\frac{n}{10}$ NaOH lösen sich dagegen spezifische Niederschläge restlos und völlig klar.

Zur Erzielung spezifischer Präzipitate ist bekanntlich die Einhaltung bestimmter quantitativer Verhältnisse zwischen den beiden Reaktionskomponenten (präzipitinogenes Eiweiß und präzipitierendes Serum) erforderlich, und zwar in einem doppelten Belange.

Zunächst hindert ein Ueberschuß von Präzipitinogen die Präzipitation (Michaëlis und Oppenheimer); daß das artspezifische Eiweiß hierbei nicht als einfaches Schutzkolloid, sondern tatsächlich als Antigen wirkt, läßt sich eben durch die Spezifität dieser Hemmung leicht beweisen. Nur ein Ueberschuß an Menschen-

serum stört die Flockung eines Reaktionsgemisches von Menschenserum und korrespondierendem Präzipitin, nicht aber ein äquivalenter Zusatz von Pferdeserum bei reaktionsfähiger Menge von Menscheneiweiß. Nach Landsteiner's letzten Arbeiten zu urteilen kommt die Antigenfunktion und ihr wesentliches Attribut, die Spezifität, im geschilderten Hemmungsphänomen sogar reiner zum Ausdruck, als in der Bildung der spezifischen Niederschläge; weil sie im ersten Falle von der Bedingung der Verkettung mit einem kolloiden Eiweißträger anscheinend weitgehend abgelöst werden kann. Läßt man den Antigenüberschuß auf das bereits gebildete, aus dem Reaktionsgemisch isolierte und mit einprozentigem NaCl auf der Zentrifuge gewaschene Präzipitat einwirken, so kann das letztere (speziell bei 37° C, oft aber auch schon bei Zimmertemperatur) wieder in Lösung gehen, d. h. in ein Globulinsol rückverwandelt werden; doch vollzieht sich dieser Prozeß nur, wenn die Niederschläge eine bestimmte Zusammensetzung haben, und erfordert weit größere Antigenmengen oder richtiger höhere Antigenkonzentrationen als die Hemmung des Präzipitationsvorganges. Die Abhängigkeit der Reversibilität des Gels durch Antigenkontakt von den quantitativen Bedingungen seiner Entstehung lehrt folgendes Beispiel:

Versuch.

a) Ein Niederschlag aus 10 ccm 0,85 prozentigem NaCl + 0,02 ccm Menschenserum + 1,0 ccm Antimenschenserum von Kaninchen 7 wird abzentrifugiert, gewaschen, in 1,5 ccm 0,85 prozentigem NaCl aufgeschwemmt und je ein Drittel versetzt:

1. mit 1 ccm Pferdeserum: bleibt trübe, setzt allmählich wieder einen massigen Niederschlag ab.
2. mit 5 ccm Pferdeserum: verhält sich wie 1.
3. mit 1 ccm Menschenserum: zeigt sofort deutliche Aufhellung, wird nach mehrstündigem Stehen ganz klar.

b) Ein zweiter Niederschlag aus 50 ccm NaCl + 0,2 ccm desselben Menschensersums + 4 ccm des gleichen Präzipitins wird abzentrifugiert, gewaschen, in 12 ccm NaCl aufgeschwemmt und je $\frac{1}{12}$ versetzt:

1. mit 2,5 ccm NaCl: bleibt trübe, scheidet ein Präzipitat ab,
2. mit 7,0 ccm NaCl: wie 1,
3. „ 2,5 „ Pferdeserum: wie 1,
4. „ 7,0 „ „ 1,
5. „ 1,5 „ Menschenserum: wie 1,
6. „ 2,5 „ „ 1,
7. „ 1,9 „ Antimenschenserum von Kaninchen 7: wie 1.

Im Prinzip kann wohl kein Zweifel bestehen, daß die Hemmung der Niederschlagsbildung und die nachträgliche Lösung fertiger Präzipitate auf identischen Ursachen beruhen müssen, wofür

ja abgesehen von anderen Momenten auch die Tatsache spricht, daß es sich in beiden Fällen um spezifische Antigenwirkungen handelt. Wo sich daher die Hemmung beobachten läßt, sollte auch die Lösung durch Antigen möglich sein; gelingt die letztere trotz Variierung der quantitativen Beziehungen der Reaktionskomponenten nicht, so kann der Grund entweder in einer sekundären Verfestigung (Hysteresis) des Präzipitates oder darin liegen, daß die zur Lösung des Niederschlages erforderliche Antigenkonzentration bei gegebenem Reaktionsvolum nicht erreicht werden kann.

Daß umgekehrt ein Ueberschuß an präzipitierendem Serum die Präzipitation zu verhindern vermag bei einer an und für sich reaktionsfähigen Antigenkonzentration, ist bei der Relativität aller zwischen Antigenen und ihren kolloiden Antagonisten auftretenden Wirkungen a priori anzunehmen und auch direkt konstatiert worden. Allerdings bekommt man diesen Fall bei den üblichen Versuchsanordnungen viel seltener zu Gesicht als die Hemmung durch Antigenüberschuß und daran ist die zweite, meines Erachtens bisher noch immer zu wenig beachtete quantitative Voraussetzung der Niederschlagsbildung in Immunkolloiden schuld.

Ermittelt man nämlich ein für die Entstehung des Niederschlages optimales Verhältnis von Präzipitinogen und Präzipitin und verringert man nun unter Konstanthaltung des einen Faktors den anderen, so wird man gewahr, daß die Antigenkonzentrationen außerordentlich herabgesetzt werden können, während ein Versuch einer Reduktion des präzipitierenden Serums alsbald ein Ausbleiben der Präzipitation nach sich zieht. Beträgt z. B. das Reaktionsvolum 1,0 ccm, so kann man unter Umständen noch mit 0,0001 ccm Antigen (etwa mit Menschenserum) einen mächtigen Niederschlag erzielen, wenn genügend Antiserum vorhanden ist; verringert man aber die absolute Menge und damit die Konzentration des letzteren, so wird die Masse des Niederschlages von 0,1 ccm Antiserum an rasch abfallen und die Ausflockung schon in den nächsten Verdünnungen sistieren, auch wenn das Quantum Eiweißantigen an sich betrachtet völlig ausreichend wäre.

Die Differenz zwischen den für die Entstehung eines Niederschlages notwendigen Mengen von Eiweißantigen einerseits und von Antiserum andererseits gilt für die ganze quantitative Reaktionsbreite der beiden Faktoren, ist somit nicht nur in Form der Minima erkennbar, sondern im Bereiche der Optima und Maxima ebenso

deutlich ausgeprägt; die Differenz der Maxima z. B. äußert sich wie bereits erwähnt dadurch, daß eine Hemmung der Präzipitation durch Antigenüberschuß weit leichter und früher eintritt, als durch Steigerung der relativen Konzentration des Antiserums.

Das Studium der Minima wird aber insofern ergebnisreich, als es zu einer, wenn auch nur einseitig bestimmten, so doch sehr wichtigen Aussage über den Anteil führt, mit welchem die beiden Reaktionskomponenten in die Masse des Niederschlages eingehen. Läßt man nämlich minimale Dosen Eiweißantigen mit ausreichenden Mengen präzipitierenden Antiserums abreagieren, so erzielt man Niederschläge von solchem Volumen, daß der bloße Augenschein ihre ausschließliche Entstehung aus ausgeflocktem Antigeneiweiß als eine Unmöglichkeit erkennen läßt; es muß also auch das Antiserum partizipieren, und zwar in hohem Grade. Diese schon von E. P. Pick, Leblanc, Linossier und Lemoine, Camus u. a. angebahnte Erkenntnis konnte in zwingender Art bewiesen werden, als man die volumetrische Abschätzung der antigenen Eiweißlösungen sowohl als auch der spezifischen Präzipitate durch die Bestimmung der Trockengewichte ersetzte. Auf diesem Wege zeigte Moll 1903, daß das Gewicht des Niederschlages jenes des zur Reaktion verwendeten Eiweißantigens um das zehnfache übertreffen kann, daß somit neun Zehntel des Präzipitates aus dem Antiserum herrühren müssen; 1908 erzielten Welsh und Chapman mit 1 mg Eialbumin ein spezifisches Präzipitat, welches 26 mg wog und 1909 steigerten Calmette und Massol bei Verwendung von Schlangengift und präzipitierenden Antiserum dieses Verhältnis auf 1:35.

Ich habe dann 1911 mit Moldavan die Provenienz der Hauptmasse der Niederschläge aus dem Eiweiß des Immunserums durch die inzwischen in die Technik eingebürgerten anaphylaktischen Reaktionen bestätigt. Wir stellten Präzipitate aus Rinderserum und Antirinderserum vom Kaninchen her und konnten mit den mehrfach gewaschenen Präzipitaten Meerschweinchen gegen Kanincheineiweiß sensibilisieren, also gegen das artspezifische Globulin des Immunserums, während die Sensibilisierung gegen das Präzipitinogen, nämlich gegen Rindereiweiß, bei Einhaltung bestimmter quantitativer Bedingungen mit keinem Teil des Reaktionsgemisches gelang.

Es ist also schon seit ziemlich langer Zeit bekannt, daß „die Auffassung vom Immunserum als präzipitierender und vom Antigen als präzipitabler Substanz“ nicht dem effektiven Reak-

tionsgeschehen entspricht; die dahin abzielenden Ergebnisse der interferometrischen Analyse des Präzipitationsphänomens durch F. Hirsch und K. Langenstraß haben gelehrt, daß auch die Anwendung empfindlicher und exakter optischer Methoden an diesem wissenschaftlichen Tatbestand nichts ändert, der ja Ursache war, warum man den Ausdruck präzipitable Substanz für das Antigen fallen ließ und ganz allgemein durch den Terminus: „Präzipitinogen“ ersetzte. Die Bezeichnung „präzipitable Substanz“ würde, wie J. Bordet richtig bemerkt, viel eher auf das präzipitierende Antiserum passen, für welches man indes vorläufig den Namen „Präzipitin“ beibehält, obzwar es derzeit sehr fraglich ist, ob die damit vindizierte aktive, gegen das Antigen gerichtete Rolle den Eiweißkolloiden der Immunsera tatsächlich zukommt (vgl. hierzu Langenstraß).

Das auffallende Ueberwiegen des Antikörpers bzw. des Immunserums über das Eiweißantigen charakterisiert auch noch eine zweite Reaktion, die Anaphylaxie. Wählt man, um die Mengen des reagierenden Antiserums genau abzustufen zu können, die passiv anaphylaktische Versuchsanordnung, und variiert nun, genau wie das soeben für die Präzipitation beschrieben wurde, einerseits die Dosen des passiv präparierenden Antieiweißserums vom Kaninchen, andererseits die Quantitäten des intravenös injizierten schockauslösenden Antigens, so erhält man ein getreues Spiegelbild der bei der Niederschlagsbildung in vitro zu beobachtenden Verhältnisse. Doerr und Ruß haben auf diese engen quantitativen Beziehungen zwischen Anaphylaxie und Präzipitation zuerst hingewiesen und ich habe auf dieses Argument gestützt die anaphylaktischen Vorgänge als eine Globulinflockung, als eine Präzipitation in vivo bezeichnet (vgl. Doerr und Moldovan), ein Standpunkt, den ich auch heute noch unverändert einnehme.

Das der Präzipitation und der Anaphylaxie gemeinsame Moment liegt wohl darin, daß in beiden Fällen das Eiweißantigen im lösungsartigen Zustand, als homogenes Eiweißsol in Reaktion tritt. Hat das Antigen die Form einer wässrigen Suspension, einer Aufschwemmung korpuskulärer Elemente von mikroskopischen Dimensionen (Bakterien, Protozoen, Erythrozyten usw.), dann ändert sich das quantitative Verhalten des Antiserums: es bewirkt die Reaktion (Agglutination, Cytolyse) schon in sehr geringen Konzentrationen (1:1000, ja 1:100000). Ein Ueberschuß von Immunserum (1:10 bis

1:50 oder mehr) würde die Ausflockung der Zellsuspension sogar stören, ein Ereignis, welches als „untere Hemmungszone“ zu den alltäglichen Laboratoriumserfahrungen gehört. Dieser Gegensatz zwischen Agglutination und Präzipitation ist nicht ohne weiteres verständlich und meines Erachtens auch bis jetzt noch nicht befriedigend erklärt. Einerseits sieht man sich gegenwärtig wohl allgemein genötigt, beide Reaktionen als wesensgleiche Prozesse, als Elektrolytflockungen des Komplexes Eiweißantigen-Eiweißantikörper zu betrachten; die Entdeckung der Bakterienpräzipitine durch R. Kraus hat den ersten Anstoß zu einer solchen einheitlichen Auffassung von Agglutination und Präzipitation gegeben (Paltauf) und die Fortschritte der Kolloidchemie, speziell die Arbeiten über die Rolle der Salze bei beiden Reaktionen (Bordet, Joos u. A.) haben die unitarische Hypothese ziemlich sicher fundiert. Der Unterschied würde — und diese Darstellung gibt z. B. neuerdings Bordet — nur darin liegen, daß die ausgeflockten Elemente bei der Agglutination relativ sehr groß, bei der Präzipitation dagegen außerordentlich klein sind, also in der enormen Differenz des Dispersitätsgrades der ausfällbaren Partikel des Eiweißantigens. Dafür scheint zu sprechen, daß bei Ueberführung des Bakterien-eiweißes in Lösung sofort die quantitativen Gesetze der Präzipitation an Stelle jener der Agglutination treten, daß also zur Flockung wieder große Mengen Immunserum erforderlich werden. Es braucht aber kaum auseinanderzusetzen zu werden, daß diese Präzisierung des Sachverhaltes den Kernpunkt des Unterschiedes zwischen den beiden Reaktionen nicht berührt; sie setzt sich vielmehr mit der Beobachtung in Widerspruch, indem sie das Eiweißantigen auch bei der Präzipitation als die präzipitable, als die ausfällbare Substanz hinstellt, was nach früheren Ausführungen nicht zutrifft, und sie erklärt nicht, warum der für die Präzipitation notwendige relative Ueberschuß des Immunserums die Agglutination verhindert.

Angesichts dieser bestehenden Unklarheiten schien es angezeigt, die mit Fällungen einhergehenden Immunitätsreaktionen artspezifischer Eiweißantigene erneut mit möglichst einfachen kolloidchemischen Modellen zu vergleichen, um durch Analyse der letzteren mit modernen Methoden und durch Feststellung ihrer quantitativen Reaktionsgesetze zu eventuellen Aufschlüssen in der einen oder anderen Richtung zu gelangen.

Für die Wahl der Kolloidmodelle was das Bestreben entscheidend, nur eine Reaktions-

komponente, das Immunserum, mit einem Faktor bekannter chemischer Zusammensetzung zu vertauschen, die andere jedoch in Form von Zellen oder Serumeiweiß beizubehalten; dieser Weg bot mehr Aussicht als der Ersatz von Antikörper und Eiweißantigen durch zwei andere, aufeinander flockend wirkende Stoffe. Unter dieser Voraussetzung eröffneten sich zwei Möglichkeiten. Die eine bestand in der Substitution des Immunserums durch ein anderes Kolloid; oder man konnte daran denken, noch einen Schritt weiterzugehen, das dem Immunserum korrespondierende zweite Kolloid ganz wegzulassen und die Flockung des „Eiweißantigens“ durch Kationen von höherer Fällungskraft, als sie den Na-Ionen der NaCl-Lösung zukommt, zu erzielen. In letzterem Falle entsprach allerdings das Modell nicht mehr ganz dem Original; dafür ergaben sich aber relativ einfache Beziehungen und im Prinzipie liefen ja beide Methoden auf dasselbe hinaus, nur daß sich die erste als Umweg präzentierte, dessen eventuelle Bedeutung nachträglich ebensogut zu ermitteln war.

Im allgemeinen wächst die fallende Wirkung der Kationen mit ihrer Wertigkeit (H. Schulze, Hardy und Whetham). Es existieren jedoch neben der Wertigkeit auch noch andere Beziehungen. So konnte R. Mines zeigen, daß einfache und komplexe dreiwertige Kationen nur auf typische Suspensioide oder lyophobe Kolloide gleichartig einwirken, daß dagegen typische Emulsionen oder Emulsionskolloide nur gegen einfache dreiwertige Kationen empfindlich sind, nicht aber oder doch nur 100 mal weniger gegen komplexe. In 5 ccm verdünnten Eiklars erzeugten z. B. 15 Tropfen einer $\frac{m}{100}$ Lösung von YCl_3 Trübung, während sogar 20 Tropfen einer $\frac{m}{10}$ Lösung von $Co(NH_3)_6Cl_3$

keine Eiweißflockung hervorriefen. Wie schon aus diesem Beispiel hervorgeht, hat Mines hauptsächlich eine Gruppe einfacher dreiwertiger Kationen, nämlich jene der seltenen Erden (La, Ce, Y, Pr, Nd, Gd, Yb, Sm usw.) studiert: er tat dies, weil die Salze derselben in ihren Lösungen nicht der hydrolytischen Dissoziation unterliegen, wie das sonst bei den Salzen mehrwertiger (insbesondere vier- und fünfwertiger Ionen) meist der Fall ist (H. Ley). Solche Dissoziationen verändern nämlich die Wasserstoffionenkonzentration wie auch die Konzentration der freien Kationen des fraglichen Salzes und schalten dadurch Faktoren ein, welche

die Beurteilung der reinen Kationenwirkung erschweren. Mines konstatierte nun, daß den dreiwertigen Kationen der seltenen Erden starke Giftwirkungen auf das ausgeschnittene Froschherz zukommen, ferner daß sie auf rote Blutkörperchen agglutinierend und wie bereits erwähnt, auf native Eiweißsole (Eiklar, Hämoglobin) flockend wirken; die letzten zwei Angaben ließen die Salze der seltenen Erden für die hier beabsichtigten Zwecke als geradezu prädestiniert erscheinen.

In diesem Sinne sprachen auch andere Angaben in der Literatur. Biltz, Much und Siebert, Landsteiner und Jagič, Girard, Mangin und V. Henri hatten schon 1904 mitgeteilt, daß Hydrosole des Zirkon- und Thoroxys, sowie jene der Kieselsäure Bakterien-suspensionen ausflocken. Indes handelte es sich hier um kolloide Verteilungsformen von Thoriumverbindungen. 1914 publizierte aber A. Simonini aus meinem Laboratorium eine Arbeit, in welcher er nachwies, daß der kolloide Zustand des Thoroxys für die Agglutination nicht unerläßlich sei, sondern daß das gut kristallisierende Thornitrat schon in sehr niedriger Konzentration (1‰ und darunter) die verschiedensten Bakterienarten aus ihren Aufschwemmungen unter Verklumpung ausfällt. Frouin und Moussali, denen alle bisher zitierten Veröffentlichungen unbekannt geblieben zu sein scheinen, konnten in jüngster Zeit identische Beobachtungen über Bakterienagglutination durch Thornitrat und Lanthansulfat machen.

Nach allem gewinnt es den Anschein, als ob die fallende Kraft der Kationen seltener Erden auf Kolloide überhaupt und auf Emulsionskolloide speziell nicht allein auf ihrer Wertigkeit beruhen würde; vielmehr dürfte dieser Kationengruppe eine kolloidchemische Sonderstellung*) zukommen, die sich in mehrfachen Belangen äußert.

*) Die Behauptung von Frouin und Ledebt, daß man durch intraperitoneale und intravenöse „Immunisierung“ von Kaninchen mit den Salzen seltener Erden hämolytische, inaktivierbare und durch Komplement reaktivierbare Ambozeptoren ohne Artspezifität (d. h. für alle möglichen Arten von Blutkörperchen) erhält, wäre darnach angetan, diese Sonderstellung noch mehr zu markieren und grundlegende Vorstellungen der Immunitätslehre zu erschüttern. Sie erwies sich aber bei genauer Nachprüfung als irrig. Ich habe sieben Kaninchen durch vier Monate mit ziemlich großen Dosen von Thoriumsulfat, Cersulfat, Cerochlorid, Lanthannitrat, Praseodymnitrat usw. injiziert und nie eine Erhöhung der schon vor Beginn der Behandlung vorhandenen Normalambozeptoren oder eine Entstehung neuer hämo-

Damit war sonach die Zusammensetzung der geeignetsten Kolloidmodelle aus einer Zellsuspension oder einem Eiweißsol und einer (dialysablen) echten Lösung eines Salzes einer seltenen Erde entschieden. Leider war es aber nicht möglich, nur die nicht dissoziierenden Salze der dreiwertigen Kationen zu verwenden, auf welche sich Mines beschränken konnte; zur Wiederauflösung (Dispersion) der Eiweißflockungen war ein kräftiger dispergierendes Kation notwendig und ein solches fand sich in dem vierwertigen Thorium. Da die Lösungen der Thorsalze stark dissoziieren, so gelten natürlich für die im folgenden angestellten Vergleiche zwischen Thor-, Cer- und Praseodymverbindungen die Einwände von Mines. Indessen kam es hier fürs erste nur auf rohe Schätzungen an, und außerdem spielt der Vergleich verschiedener Salze untereinander für das Wesen der Versuche und ihre Deutung keine entscheidende Rolle.

I. Agglutination.

Zu den meisten der nachstehend beschriebenen Versuche wurde neutrales, vom Kristallwasser befreites Thoriumsulfat $\text{Th}(\text{SO}_4)_2$ verwendet, welches sich in destilliertem Wasser und 0,85 Proz. NaCl-Lösung langsam (innerhalb von 1—3 Stunden, je nach der herzustellenden Konzentration), aber völlig klar löst. Die notwendigen Verdünnungen wurden aus den ein- bis zweiprozentigen Stammlösungen durch Zusatz von Aq. dest. oder 0,85 Proz. NaCl hergestellt. Mit Alkalikarbonaten liefern alle Thoriumsalzlösungen voluminöse, weißlich-flockige Niederschläge, welche unter dem Mikroskop amorph aussehen. Setzt man Reaktionen von Na_2CO_3 und $\text{Th}(\text{SO}_4)_2$ in destilliertem Wasser an, und zwar derart, daß man bei konstanter Menge des einen Reagens das andere fortschreitend vermindert und umgekehrt, so kann man sich leicht überzeugen, daß solche Reihen eine untere und obere Hemmungszone erkennen lassen, mit anderen Worten, daß ein relativer Konzentrationsüberschuß eines Faktors die Bildung des Niederschlages verhindert.

lytischer Immunambozeptoren konstatiert. Der Irrtum der beiden Autoren dürfte darauf beruhen, daß sie es unterließen, das Serum ihrer Kaninchen vor Einleitung der Injektionen auf den Gehalt an normalen Antikörpern auszuwerten; die Titer, welche sie durch Zufuhr der seltenen Erden zu erzielen vermeinten, entsprechen in ihrer geringen Höhe durchaus den Wirkungsstärken normaler Kaninchenserum.

a) Reaktionsvolum = 3 ccm, konstante Menge Thorsulfat, fallende Mengen Na_2CO_3 .

	+ 2 ccm		st. Op. *)
	+ 1,5 "		"
1 ccm	+ 1,0 "		"
	+ 0,8 "	1 proz.	sehr st. Op.
0,5 proz.	+ 0,6 "	Na_2CO_3	++++
Th $(\text{SO}_4)_2$	+ 0,4 "		++++
	+ 0,2 "		++++
	+ 0,1 "		Op.

*) st. Op. = starke Opaleszenz, +++ = voluminöser, +++ = mäßiger Niederschlag.

b) Reaktionsvolum = 3 ccm, konstante Menge Na_2CO_3 , fallende Dosen $\text{Th}(\text{SO}_4)_2$.

	+ 2 ccm	1 proz. $\text{Th}(\text{SO}_4)_2$	—
	+ 2 "		Op.
	+ 1,5 "		++++
1 ccm	+ 1,0 "		++++
	+ 0,8 "	0,5 proz.	++++
0,2 proz.	+ 0,6 "	$\text{Th}(\text{SO}_4)_2$	++++
Na_2CO_3	+ 0,4 "		++++
	+ 0,2 "		Op.
	+ 0,1 "		—

Die Niederschläge, welche sich bereits gebildet haben, lösen sich in einem Ueberschusse sowohl von Thorsulfat als von Na_2CO_3 ; das schließliche Endprodukt kann nach den in der chemischen Literatur vorhandenen Angaben als Doppelsalz mit Soda: $\text{Th}(\text{CO}_3)_2 \cdot 3\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ unter besonderen Vorsichtsmaßregeln isoliert werden. Sowohl die Hemmung der Niederschlagsbildung durch relativen Konzentrationsüberschuß eines Faktors als auch die nachträgliche Lösung der fertigen Niederschläge in einer der beiden Reaktionskomponenten erinnern sehr an die Verhältnisse bei der Präzipitation. Ich möchte hierauf nicht weiter eingehen und nur bemerken, daß sich Niederschläge aus Thorsulfat und Na_2CO_3 auch in ThCl_4 lösen, nicht aber in Praseodymnitrat oder Cerchlorid, daß sich also anscheinend die Thorsalze gegenseitig vertreten können, nicht aber die verschiedenen Kationen der seltenen Erden. Weiter wäre zu betonen, daß wie bekannt auch die Salze anderer seltener Erden (Cer, Praseodym usw.) mit Na_2CO_3 Niederschläge geben, daß aber diese Reaktionen die Phänomene der Hemmung und der Reversibilität durch Konzentrationsüberschuß eines Faktors nicht zeigen.

Thorsulfat agglutiniert alle (untersuchten) Bakterienarten, Hefezellen, Schimmelpilzsporen usw., und zwar in so starken Verdünnungen, daß die Agglutination als bequemes Mittel zum Nachweis freier Thorsalze in wässrigen Flüssigkeiten verwendet werden kann, falls die Konzentrationen 1:5000 — 6000 nicht unterschreiten. Allerdings sind die Grenzverdünnungen, in welchen Thor-

sulfat noch agglutiniert, nicht immer die gleichen und hängen wie bei der Immunagglutination von der Dichtigkeit der benutzten Bakterien-suspension, dann aber auch von der Art der Mikroorganismen ab.

Agglutination verschiedener Mikroorganismen durch Thorsulfat (Reaktionsvolum 2 ccm).

Thor-konzentr.	Staphyl.	B. mesent.	Anthrax	X ₁₉
1:1000	+++	+++	+++	+++
1:2000	++	++	+++	+++
1:4000	—	—	+++	+++
1:6000	—	—	+++	+
1:8000	—	—	+++	—

Im allgemeinen läßt sich sagen, daß Proteus- oder Typhusbakterien für solche Untersuchungen wegen ihrer leichten Fällbarkeit geeignet sind und daß die Differenzen zwischen nahe verwandten Bakterienarten weder konstant noch groß genug sind, um darauf etwa eine Unterscheidung der Spezies zu basieren.

Erwärmen auf 56° C schwächt die Fällbarkeit nicht ab, längeres Kochen reduziert sie ganz unbedeutend, Erhitzen auf 70° C etwas, aber nicht wesentlich stärker; bei den Proteus-X₁₉-Stämmen ergeben sich daher wesentliche Unterschiede gegenüber der Agglutination durch Fleckfieberserum auf die ich an anderer Stelle zurückkommen werde. Die Verklumpung, welche sehr rasch (innerhalb weniger Minuten) eintritt, ist irreversibel; nach wiederholtem Waschen und Wiederaufschwemmen der Thorbakterien in NaCl-Lösung erfolgt die Flockung und Sedimentierung stets mit unverminderter Geschwindigkeit.

Ein Ueberschuß von Thorsulfat verhindert die Ausflockung; diese „unteren Hemmungszonen“ sind in der Regel sehr deutlich markiert:

Agglutination von Typhusbazillen durch Thorsulfat (Reaktionsvolum 2 ccm).

Thorkonzentration	Ergebnis
1: 135	—
1: 166	—
1: 250	—
1: 500	++
1: 1000	++++
1: 2000	++++

Thorsulfat und andere wasserlösliche Thorsalze schädigen lebende Zellen und töten dieselben bei genügender Konzentration und Einwirkungsdauer ab, sind somit ziemlich intensive Gifte für pflanzliches oder tierisches Protoplasma. Soweit es sich um Bakterien handelt, haben schon A. Simonini sowie Frouin u. Moussail über

desinfektorische Effekte der Thorverbindungen sowie der Salze anderer seltener Erden berichtet; diese Angaben könnte ich bestätigen und für tierische Zellen (Trypanosomen, Spirochaeten, Infusorien usw.) erweitern. Es ergaben sich hierbei sehr interessante Details, speziell auch in morphologischer Beziehung; von denen ich nur einige wenige, für den Mechanismus der Agglutination wichtige Punkte hervorhebe.

Bewegliche Zellen werden durch Thorsulfat schon in sehr starken Verdünnungen immobilisiert und eigentümlich starr; doch ist der Verlust der Beweglichkeit keineswegs gleichbedeutend mit dem Zelltode, der erst später und bei höheren Konzentrationen erfolgt, wobei die Empfindlichkeit der Zelle von ihrer Art abhängt. Typhusbazillen z. B. werden schon durch Verdünnungen von 1:5000 partiell geschädigt, durch solche von 1:2000 bereits in 7 Minuten (vielleicht auch noch früher) abgetötet; Naganatrypanosomen verlieren ihre Motilität in 1% Thorsulfat schon in wenigen Sekunden, ihre Infektiosität für weiße Mäuse in längstens 15 Minuten; Rekurrensspirochaeten dagegen werden zwar auch rapide gelähmt, sind aber noch nach 55 Minuten langem Aufenthalt in 1% Thorsulfat infektiös und ertragen sogar eine 10 Minuten lange Einwirkung von 2% Thorsulfat ohne Einbuße der Virulenz. Erst ein 15—30 Minuten langer Aufenthalt in 2% Thorsulfat schädigt die Rekurrensspirochaeten so weit, daß sie weiße Mäuse bei intraperitonealer Infektion nicht mehr zu infizieren vermögen.

Bakterien- und Schimmelpilz-Sporen sind sehr resistent und werden selbst durch mehrtägiges Liegen in 1—2% Thorsulfat ihrer Wachstumsfähigkeit nicht beraubt. Offenbar beruht diese Resistenz auf der Impermeabilität der Sporenmembran, so daß also das Thorium mit Sporenhalt gar nicht in Kontakt treten kann; da aber die Sporen ebensogut agglutinabel sind wie die vegetativen Formen, darf man wohl schließen, daß die Agglutination bloß durch Beeinflussung oder Veränderung der äußeren Zelloberfläche zustande kommt, nicht aber durch engere Wechselwirkung von Protoplasma-Eiweiß und Thor-Kation. Wahrscheinlich gilt das für die Immunagglutination in gleicher Weise wie für das Bakterien-Thor-Modell.

Die Unabhängigkeit der Agglutination lebender Zellen von ihrer Abtötung zeigt sich übrigens nicht nur bei den Sporen, sondern auch bei den vegetativen Bakterienformen. Hohe Konzentrationen von Thorsulfat (1:100) agglutinieren

nicht (untere Hemmungszone), töten aber ab; starke Verdünnungen dagegen (1:4000) flocken oft noch Bakteriensuspensionen aus, ohne (bei entsprechender Einwirkungszeit) die Wachstumsfähigkeit zu vernichten.

Mit Hilfe der Agglutination läßt sich auch die Dialysierbarkeit des Thorsulfats sehr einfach nachweisen. Füllt man nämlich ein- bis zwei-prozentige Lösungen von Thorsulfat (in Aq. dest. oder in 0,85proz. NaCl) in Fischblasen, Pergamentschläuche, Abderhalden'sche Hül-sen, deren Undurchlässigkeit für echte Kolloide geprüft wurde, und dialysiert gegen destilliertes Wasser oder 0,85proz. NaCl, so findet man in der Innen- und Außen-Flüssigkeit nach relativ kurzer Zeit den gleichen Gehalt an freiem Thorsalz, was durch den gleichen „agglutinierenden Titer“ für eine bestimmte Bakterienart ohne besondere Mühe festzustellen ist. Diese Versuche wurden so oft und mit so verschiedenen Dialysiermembranen wiederholt, daß kein Zweifel bestehen kann, daß die agglutinierende Wirkung dem gelösten, dialysablen und kristallisierbaren Thorsulfat als solchem und nicht etwa einer kolloiden Verunreinigung (etwa mit Thoroxyd) zukommt. Uebrigens agglutinieren auch andere Thorsalze wie z. B. Thorchlorid, Thor-nitrat, Thor-ammoniumnitrat, welche sämtlich gut kristallisieren und dialysieren; ferner kann man Agglutinationen auch mit den Salzen anderer seltener Erden (geprüft wurden Lanthannitrat, Praseodymnitrat, Cerochlorid, Ceroammoniumnitrat) ausführen, so daß die Komposition des hier benützten Modelles aus einem Eiweißkolloid (Zellsuspension oder Sol) und einem fällenden Elektrolyten (mit einem hochwertigsten Kation aus der Gruppe der seltenen Erden) gesichert erscheint. Von Cero-, Praseodym- oder Lanthan-Salzen sind behufs Ausflockung höhere Konzentrationen erforderlich; vergleichende Studien wurden angestellt, sind aber für unsere Betrachtung nicht wesentlich, können daher hier übergangen werden.

II. Präzipitation.

Thorsulfat gibt mit Serum Niederschläge, welche in destilliertem Wasser und 0,85 prozentigem NaCl unlöslich sind, welche sich dagegen in NaOH glatt (wie spezifische Präzipitate) lösen.

Für die Entstehung der Niederschläge ist das Verhältnis der Mengen (Konzentrationen) der beiden Reaktionskomponenten zueinander entscheidend, insofern als ein relativer Ueberschuß von Thorsulfat oder auch umgekehrt von Serum die Präzipitation völlig hindert; diese

„unteren Hemmungszonen“ sind absolut gesetzmäßig, falls man gleiche Reaktionsbedingungen wählt und insbesondere auch das gleiche Serum benützt. Es ist ja bekannt, daß der Eiweiß- und speziell der Globulingehalt der verschiedenen Tiersera differiert, woraus sich natürlich Verschiebungen der Fällungsgrenzen ergeben müssen, wie der folgende Versuch lehrt, der auch die untere Hemmungszone bei Thor- bzw. bei relativem Serum-Ueberschuß gut erkennen läßt.

Versuch.

Reaktionsvolum 3 ccm. Jedes Röhrchen enthält 2,5 ccm einer Serumverdünnung von 1:10, dann die angegebene Menge $\text{Th}(\text{SO}_4)_2$ in 0,85proz. NaCl (0,5 ccm).

Thordosis g	Serum art:			
	Pferd	Rind	Kaninchen	Meerschweinchen
0,00017	—	—	—	—
0,00033	Op.	f. —	—	—
0,0005	st. Op.	Op.	Op.	Op.
0,00066	+	+	+	st. Op.
0,00082	++	++	++	„
0,001	+++	+++	+++	„
0,0013	++++	++++	++++	+
0,007	st. Op.	++++	+++	„
0,008	„	++++	+	„
0,01	Op.	+++	st. Op.	—
0,013	Sp.	+	Op.	—
0,014	—	st. Op.	„	—
0,016	—	Op.	—	—
0,02	—	—	—	—

Das eiweißarme Meerschweinchenserum bleibt also unter diesen Reaktionsbedingungen schon bei Zusatz von 10 mg Thorsulfat klar, das eiweißreiche Rinderserum benötigt bei gleichem Volum das Doppelte, falls die Entstehung einer Dispersitätsverminderung der Globuline hintanhaltend werden soll.

Ganz ähnliche Reihen resultieren, wenn man das Quantum Thorsulfat konstant hält (z. B. 1 mg in 2 ccm Reaktionsvolum) und den Serumzusatz abstuft, wie im folgenden, mit Pferdeserum ausgeführten Versuch:

0,001 g Thorsulfat	+ 0,6	ccm Pferdeserum	—
	+ 0,5	„	f. —
	+ 0,4	„	f. —
	+ 0,35	„	Trbg.
	+ 0,3	„	st. Trbg.
	+ 0,2	„	+++
	+ 0,15	„	++++
	+ 0,1	„	++++
	+ 0,05	„	++++
	+ 0,025	„	Trbg.
	+ 0,0125	„	Op.
	+ 0,01	„	f.
	+ 0,007	„	—

Bei 2 ccm Reaktionsvolum liegt somit die Reaktionsbreite des Pferdeserums mit 1 mg Thorsulfat zwischen 0,025 bis 0,35 ccm, falls man das Auftreten deutlicher Verminderungen der Transparenz als Indikator verwendet, und zwischen 0,035 bis 0,25, wenn man einen Niederschlag erhalten will. Die Reaktionsbreite ist daher ziemlich gering, die absoluten Mengen Pferdeserum sind relativ groß. Vergleicht man obige Reihen mit Auswertungen einer konstanten Präzipitinmenge gegen fallende Antigendosen und umgekehrt mit Titrationen eines konstanten Antigenquantums gegen abgestufte Volumina Präzipitin, so wird es ohne weiteres evident, daß man mit Hilfe von Pferdeserum sehr geringe Konzentrationen von Thorsulfat nachweisen könnte, daß dagegen Thorsulfat kein besonders empfindliches Reagens für Serumweiß darstellen würde.

So wie Thorsulfat und andere wasserlösliche Thorsalze fallen auch wasserlösliche Salze des Cers, Praseodyms usw. Serumweiß; es ergeben sich dabei analoge quantitative Verhältnisse zwischen Eiweiß- und Salzkonzentration, vor allem tritt auch der hemmende Einfluß des einseitigen Ueberschusses einer Reaktionskomponente sehr prägnant in Erscheinung, aber die absoluten Zahlen sind natürlich ganz andere. Würde man z. B. bei einem Reaktionsvolum von 2 ccm 0,001 g Cerochlorid mit fallenden Mengen Pferdeserum z. B. 0,2 — 0,002 ccm versetzen, so würden — wie man sich leicht überzeugen kann — alle Röhrchen klar bleiben und nur im Bereiche von etwa 0,1 — 0,02 ccm wäre eine Spur Opaleszenz wahrzunehmen. Erhöht man jedoch die absolute Menge und damit die Konzentration des Cerochlorids ebenso wie jene des Pferdeserums auf das Zehnfache, so erhält man nachstehende Reihe:

Versuch.

0,01 g Cerochlorid	+ 1,8	ccm Pferdeserum	—
	+ 1,4	„	—
	+ 1,2	„	Trbg.
	+ 1,0	„	st. Trbg.
	+ 0,9	„	++++
	+ 0,125	„	++++
	+ 0,1	„	++++
	+ 0,05	„	+++
	+ 0,03	„	+++
	+ 0,028	„	Op.
	+ 0,025	„	„
	+ 0,018	„	„
	+ 0,015	„	—

In 2 ccm Reaktionsvolum liefern also 10 mg Cerochlorid mit 0,03 — 1,0 ccm Pferdeserum Niederschläge. Es wäre aber irrig, daraus folgern zu wollen, daß im gleichen Reaktionsvolum 1 mg

Cerochlorid mit 0,003 — 0,1 ccm Pferdeserum unter Niederschlagsbildung reagieren müßte; vielmehr erhält man dann für beide Reaktionskomponenten Konzentrationen, welche unter der Reaktionsschwelle liegen, während sie beim Thorsulfat — wie wir gesehen haben — zum Teil (0,035 — 0,1 ccm Pferdeserum) in das Bereich der starken Niederschläge fallen. Ob somit ein Präzipitat entsteht oder nicht, hängt davon ab, daß ein bestimmtes Verhältnis zwischen den Konzentrationen von Serumeiweiß und von fällendem Salz der seltenen Erde besteht, sondern wird auch noch dadurch bestimmt, daß diese Konzentrationen einen gewissen Schwellenwert nicht unterschreiten, der für Thorsalze z. B. weit niedriger ist als für Ceroverbindungen. Diese Schwellenwerte können bestimmt werden, indem man von einem optimalen Reaktionsgemisch ausgeht und nun unter Beibehaltung des Reaktionsvolums sowohl das fällende Salz als auch das Pferdeserum gleichmäßig, d. h. ohne Aenderung ihres Verhältnisses zueinander fortschreitend abnehmen läßt, wie das die nachstehenden Beispiele illustrieren.

Versuch.

a) mit Cerochlorid. — Volum 2 ccm.

0,01 g Cerochlorid	+ 0,5 ccm Pferdeserum	++++
0,009 „	+ 0,45 „	++++
0,008 „	+ 0,4 „	++++
0,007 „	+ 0,35 „	++++
0,006 „	+ 0,3 „	++++
0,005 „	+ 0,25 „	++++
0,004 „	+ 0,2 „	+++
0,003 „	+ 0,15 „	st. Trbg.
0,002 „	+ 0,1 „	Op.
0,001 „	+ 0,05 „	—

b) mit Praseodymnitrat. — Volum 2 ccm.

0,005 g Pras.-Nitr.	+ 0,25 ccm Pferdeserum	++++
0,0045 „	+ 0,225 „	++++
0,004 „	+ 0,2 „	++++
0,0035 „	+ 0,175 „	++++
0,003 „	+ 0,15 „	++++
0,0025 „	+ 0,125 „	++++
0,002 „	+ 0,1 „	+++
0,0015 „	+ 0,075 „	++
0,001 „	+ 0,05 „	Trbg.
0,0005 „	+ 0,025 „	—

c) mit Thorsulfat. — Volum 2 ccm.

0,001 g Thorsulfat	+ 0,1 ccm Pferdeserum	++++
0,0009 „	+ 0,09 „	++++
0,0008 „	+ 0,08 „	++++
0,0007 „	+ 0,07 „	++++
0,0006 „	+ 0,06 „	++++
0,0005 „	+ 0,05 „	++++
0,0004 „	+ 0,04 „	+++
0,0003 „	+ 0,03 „	Trbg.
0,0002 „	+ 0,02 „	Op.
0,0001 „	+ 0,01 „	—

Sehr bemerkenswert ist die Reversibilität der Niederschläge, d. h. die spontane Rückverwandlung des Koagels in ein Sol bei Zusatz einer der beiden Reaktionskomponenten, wozu allerdings von letzteren weit höhere Konzentrationen notwendig sind als jene, welche zur Verhinderung der Niederschlagsbildung ausgereicht hätten. Mischt man z. B. 1 ccm $\frac{1}{10}$ Pferdeserum (0,1 ccm konzentriertes Pferdeserum) mit 0,2 ccm 0,5prozentigen Thorsulfat, so entsteht sofort ein mächtiges Präzipitat, zu dessen Lösung ca. 0,9 ccm einprozentiges Thorsulfat oder etwa 1,5 ccm konzentriertes Pferdeserum benötigt werden, während die Hemmung der Ausflockung im ursprünglichen System schon mit weit geringeren Mengen Salz oder Serumeiweiß zu erzielen wäre (vgl. die Tabellen). Die Lösung erfolgt in aller kürzester Zeit, innerhalb einiger Sekunden, und entspricht einer maximalen Dispersion der ausgeflockten Substanzen, wie das aus der vollkommenen Durchsichtigkeit der resultierenden Flüssigkeiten hervorgeht.

Dabei können sich die verschiedenen Sera gegenseitig vertreten: ein Präzipitat aus Pferdeserum löst sich also auch in Rinder-, Menschen- und Meerschweinchenserum. Ebenso ist eine Substitution der Salze verschiedener seltener Erden möglich, so daß z. B. Präzipitate, die man mit Cerochlorid oder Praseodymnitrat dargestellt hat, sofort in den Solzustand übergehen, falls man sie mit einer genügenden Menge entsprechend konzentrierten Thorsulfates in Kontakt bringt, und umgekehrt. Die lösende Wirkung ist der fällenden im allgemeinen proportional; Thorsalze lösen also besser (in geringeren Konzentrationen) als Cer- oder Praseodym-Verbindungen. Altern der Niederschläge vermindert ihre Reversibilität nicht; Präzipitate, aus Menschenserum und Thorsulfat gewonnen, ließen sich noch nach Wochen und Monaten (feuchter Aufbewahrung) ebenso prompt in Rinderserum oder Thorsulfat lösen wie am ersten Tage ihrer Entstehung.

Spezifische Präzipitate (gewonnen aus Eiweißantigen und präzipitierendem Immunserum) lösen sich in Thorsulfat gleichfalls schnell und vollständig, eine Tatsache, die theoretisch und praktisch (versuchstechnisch) Bedeutung hat. Aus dem Kolloidmodell dürfen wir wohl den Schluß ableiten, daß die bei demselben beobachtete Eiweißflockung ebenso wie die Reversion der Flockung durch Ueberschuß einer Reaktionskomponente rein physikalische Vorgänge sind, welche das Eiweiß selbst chemisch intakt lassen. Das geht auch daraus hervor,

daß das durch Thorsulfat gefällte Serumweiß sowohl als solches wie auch nach der Wiederauflösung im Thorüberschuß seine Antigen-spezifität unverändert beibehält; man kann mit solchen Präparaten Meerschweinchen spezifisch sensibilisieren und bei sensibilisierten Meerschweinchen durch intravenöse Injektion Schock auslösen. Letzteres Experiment gelingt auch mit den gewaschenen Thoreiweißpräzipitaten, da sie im Blutplasma der gespritzten Tiere offenbar ebenso glatt in Lösung gehen wie in der Epruvette bei der Vermengung mit konzentriertem Meerschweinchenserum. Da nun spezifische Präzipitate durch Thorsulfat in der gleichen Weise, d. h. auf rein physikalischem Wege dispergibel sind, so liegt die Annahme nicht fern, daß auch der Flockungsvorgang, dem sie ihre Bildung verdanken, ein physikalisches und kein chemisches Geschehen repräsentiert. Technisch erscheint die Möglichkeit einer kompletten, durchsichtige Flüssigkeiten liefernden Lösung spezifischer Präzipitate in Thorsulfat wertvoll, weil diese Prozedur, welche zweifellos weniger eingreifend ist als die Lösung in NaOH, die Aussicht auf eine optische Analyse des Präzipitationsphänomens, wie sie Hirsch und Langenstraß versucht haben, verbessert und das von Doerr und Moldovan begonnene Studium der Zusammensetzung spezifischer Präzipitate mit Hilfe der Anaphylaxie wesentlich erleichtert. Endlich wäre zu erwägen, ob man durch Fällung schwacher Immunsera mit Thorsulfat und Wiederauflösung des Koagels in Immunserum gleicher Art nicht eine Konzentration der Antikörper herbeiführen könnte; ein Vorversuch in dieser Richtung fiel befriedigend aus. Für therapeutisch anzuwendende Heilsera (nach Art der von Gibson, Banizhof, Homer u. A. durch Ammonsulfat konzentrierten Diphtherie- und Tetanussera) müßte man allerdings erst die Giftwirkung der Salze seltener Erden genauer ermitteln, da z. B. Mines gezeigt hat, daß dreiwertige Ionen seltener Erden (La, Ce, Y, Pr, Yb, Sm usw.) schon in Verdünnungen von 0,000001 n — 0,00001 n Stillstand des ausgeschnittenen Froschherzens herbeiführen, und daß dieser Stillstand im allgemeinen schwer zurückgeht und speziell bei bloßer Entfernung des aktiven Ionen aus der Durchspülungsflüssigkeit nur langsam der Erholung weicht. Es erscheint aber fraglich, ob im Organismus analoge Verhältnisse bestehen wie in solchen Experimenten. Meerschweinchen von 390 — 420 g ertrugen die rasche intravenöse Injektion von 1,2 — 3,5 ccm 0,5 prozentiger Lösung von Thor-

sulfat ohne sichtbare Störung und bei Kaninchen von 2000 g konnte ich 2 ccm einer einprozentigen Lösung von Thorsulfat oder 2 ccm einer zweiprozentigen Lösung von Cerochlorid bzw. Praseodymnitrat in einem Schuß in die Ohrvenen einspritzen, ohne daß die Tiere auf diesen Eingriff unmittelbar reagiert hätten. Erst auf die intravenöse Injektion von 2 ccm einer zweiprozentigen Lösung von Thorsulfat erfolgte bei einem Kaninchen von 1800 g nach wenigen Minuten ein schwerer anaphylaktoider Anfall; die Atmung setzte nach einigen schnappenden Respirationen völlig aus, die Bulbi traten hervor, der Cornealreflex schwand gänzlich und das Tier lag wie tot da. Nach einigen weiteren Minuten wurden ganz seichte, allmählich sich vertiefende Atemzüge bemerkbar, die Cornealreflexe stellten sich wieder sukzessive ein und wurden normal, das Kaninchen setzte sich auf und war innerhalb einer Viertelstunde so weit erholt, daß es vorgelegtes Futter fraß. Meines Erachtens war der Symptomenkomplex nicht auf die Vergiftung des Herzens durch das Thorkation zu beziehen, wogegen das rasche Zurückgehen der Erscheinungen sprach, sondern auf eine intravasculäre Präzipitation der Globuline des Blutplasmas durch das Thorsalz und eine Reversion dieser Flockung durch das überschüssige Blutplasma, welches die noch funktionierende Herzkraft an die Stätten der Koagulation heranbrachte; es dürfte sich also hier um ähnliche Prozesse handeln, wie sie nach der direkten Einbringung kolloider Kieselsäure in die Blutbahn auftreten (Doerr und Moldovan). Allerdings könnte beim Thorsulfat ebenso wie bei der kolloiden Kieselsäure auch Hämagglutination im Spiele sein; aber diese tritt in vitro langsamer ein als die fast momentane Globulinflockung und wird überdies durch das Plasma, welches in gewissem Sinne als Schutzkolloid fungiert, verzögert oder gestört.

Die Schutzwirkung der Eiweißkörper des Plasmas ist es auch, wenn die am Froschherzen beobachtete Vergiftung des Herzmuskels durch intravenös injiziertes Thorsalz oder ähnliche hochwertige Kationen seltener Erden ausbleibt. Das Thorsalz bleibt nämlich nicht frei, sondern geht mit dem Serum-(Plasma-)Eiweiß lockere Verbindungen „Thoralbuminate“ ein, in analoger Weise wie das G. Galeotti für die Präzipitationserscheinungen zwischen Eier-(Serum-)Albumin und Schwermetallsalze (CuSO_4 oder AgNO_3) beschrieben hat; mit diesen Eiweiß-flockungen durch Schwermetallsalze teilen ja die hier geschilderten Eiweißfällungen durch

seltene Erden die Reversibilität, die Löslichkeit der Niederschläge im Ueberschuß der einen oder der anderen Reaktionskomponente, ein Phänomen, dessen Gesetzmäßigkeiten für Schwermetall-Eiweißsysteme Galeotti graphisch darzustellen vermochte. Daß tatsächlich solche Bindungen eintreten, welche im Reaktionsgemisch vorhandene lebende Zellen vor der Giftwirkung der Thorsalze ebenso schützen, wie etwa Serum-eiweiß die desinfektorische Kraft von HgCl_2 abschwächt, geht aus dem nachstehenden Versuch hervor, demzufolge Thorsulfat in Leitungswasser mehr als zehnmal so stark bakterizid wirkt als in Peptonbouillon.

Versuch.

Zwei Reihen Epruvetten, die eine mit je 10 ccm Peptonbouillon, die andere mit je 10 ccm sterilem Leitungswasser erhalten fallende Zusätze von Thorsulfat und werden mit je 0,05 ccm einer dichten Typhusbazillen-Emulsion beimpft. Nach 20 stündiger Einwirkungsdauer wird je eine Oese aus jeder Epruvette zu einer Gelatineplatte verarbeitet.

Thorzusatz g	Bouillonröhrchen	Leitungswasser- röhrchen
0,001	Zahllose Kolonien	15 Kolonien
0,002	" "	steril
0,003	" "	"
0,004	" "	"
0,005	" "	"
0,006	" "	"
0,007	" "	"
0,01	Zahlreiche	"
0,02	120	"

Die Bindung des Thorsalzes an das Eiweiß zu einem kolloidchemisch unwirksamen Komplex kann auch dadurch demonstriert werden, daß nach der Ausflockung einer Serumlösung mit Thorsulfat die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit nicht mehr agglutinierend (auf Bakterien) wirkt. Ferner kann man weder aus der überstehenden Flüssigkeit noch aus dem Niederschlage durch Dialyse gegen destilliertes Wasser das Thorsulfat in agglutinierend wirkenden Mengen abspalten.

Versuch.

5 ccm Rinderserum + 20 ccm 0,85 prozentige NaCl-Lösung + 5 ccm einprozentiges Thorsulfat geben eine starke Fällung mit klarer, überstehender Flüssigkeit. Die einprozentige Thorsulfatlösung hat dabei eine sechsfache Verdünnung erfahren; wäre das Thorsulfat an der Reaktion unbeteiligt, so müßte die überstehende Flüssigkeit noch in 10—12 facher Dilution X_{10} -Bazillen ausflocken; sie erweist sich aber auch im konzentrierten Zustande als unwirksam.

Der Niederschlag wird gegen größere Mengen destilliertes Wasser in Flüssen von Schleicher & Schüll dialysiert: die Außenflüssigkeiten werden auf 20 ccm

Volum eingedampft, agglutinieren aber weder im konzentrierten noch im verdünnten Zustande X_{10} .

Die bei der Dialyse der überstehenden Flüssigkeit gewonnene Außenflüssigkeit, auf 3 ccm eingedampft, agglutiniert ebensowenig.

Auch durch Veraschen des Niederschlages und Auslaugen der Asche mit Wasser läßt sich das Thor nicht als Agglutinin gewinnen, was sich wohl aus der Ueberführung des Thorsulfates oder Thorhydroxyds in unlösliches Thoroxyd durch den Glühprozeß erklärt.

Löst man Thoreiweißpräzipitate im Eiweißüberschuß z. B. in konzentriertem Pferdeserum und dialysiert man die erhaltene klare Lösung gegen destilliertes Wasser, so enthält die Außenflüssigkeit keine nachweisbare Spur von agglutinierendem Thorsalz. Der Inhalt der Hülse erscheint stark getrübt, offenbar weil die Globuline infolge des Abdialysierens der Serumsalze ausflocken; setzt man NaCl zu, so erfolgt völlige Klärung.

Nimmt man die Lösung eines Thorpräzipitates in Thorsulfat vor, so gestalten sich die Dinge wie folgt:

Versuch.

1 ccm Pferdeserum + 9 ccm NaCl + 0,3 ccm einprozentiges Thorsulfat gibt einen Niederschlag, welcher durch Zentrifugieren und Waschen isoliert und in 2 ccm zweiprozentigem Thorsulfat gelöst wird. Diese absolut klare Lösung wird, gegen einmal gewechseltes Aq. dest. (2×20 ccm) dialysiert, opaleszent und kann durch Zusatz von NaCl nicht geklärt werden. Die Außenflüssigkeit auf $\frac{1}{10}$ des Volums (= 4 ccm) eingedampft, sollte noch in hohen Verdünnungen (1:50—100) X_{10} agglutinieren, gibt aber nur im konzentrierten Zustand Agglutination, zweifach verdünnt bloß andeutungsweise, vierfach verdünnt nicht mehr.

Daraus erhellt, daß das Eiweiß nicht nur in der Form des Koagels Thorsalz festhält, sondern auch wenn es durch Thorsulfat- oder Serumüberschuß wieder zum Sol dispergiert wurde; erst sehr bedeutende Ueberschüsse werden frei und auch in Gegenwart von Eiweiß dialysabel.

III. Optische Analyse des Kolloidmodelles und der Immunpräzipitation.

Hierzu wurde im allgemeinen die von P. Hirsch und K. Langenstraß angegebene und durchgebildete Methodik verwendet.

Es wurden zunächst die Interferometerwerte (IW) der beiden gelösten Reaktionskomponenten in der 4 cm-Kammer gegen eine Vergleichsflüssigkeit (meist eine bestimmte 0,85 prozentige NaCl-Lösung) ermittelt und daraus der IW eines Gemisches gleicher Volumina beider Komponenten als arithmetisches Mittel der abgelesenen Zahlen berechnet. Trat bei der Vermengung der Reaktionskomponenten eine Flockung auf, so ergab sich für die überstehende

Flüssigkeit ein IW, der hinter der für das Gemisch errechneten Ziffer zurückblieb; die Differenz sollte (wenigstens beim Kolloidmodell) dem Präzipitat entsprechen. Ich machte nun von der ausgezeichneten Dispergibilität der Niederschläge in einem Ueberschusse von Thorsulfat Gebrauch und löste sie in Thorsulfatlösung von bekanntem IW, so daß das Gesamtvolum der Lösung dem Volum des Gemisches der beiden Reaktionskomponenten glich. Dadurch erfuhr der IW der Thorsulfatlösung eine Zunahme, welche bei rein physikalischen Zustandsänderungen dem für das Präzipitat berechneten Differenzwert gleichen mußte. Beim Abmessen der Volumina wurden geaichete Pipetten benutzt und die oft sehr bedeutenden Meßfehler durch relativ große Volumina beider Reaktionskomponenten (mindestens 10 ccm) ausgeglichen. Die Niederschläge wurden scharf abzentrifugiert, die überstehenden Flüssigkeiten sorgfältig und vollständig abgesaugt.

Versuch.

Je 10 ccm Pferdeserum (im Verhältnis von 1:20 mit 0,85 prozentigem NaCl verdünnt) + 0,05 prozentige Thorsulfatlösung werden im Zentrifugenglas vermengt, die Flockung abgewartet, zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgesogen und bis zum ursprünglichen Niveau durch 0,5 Proz. Thorsulfat ersetzt, in welchem sich das Sediment klar löst.

Interferometerwerte:

1. $\frac{1}{20}$ Pferdeserum	2238
2. 0,05 Proz. Thorsulfat	156
3. $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,05 Thorsulfat in 10 ccm	1197 ber.
4. Ueberstehende Flüssigkeit	224
5. Aus 3 und 4 berechn. Wert des Präzipitates	973 „
6. 0,5 Proz. Thorsulfat	1575
7. Präzipitat in 0,5 Proz. Thorsulfat gelöst	2548 „
8. Wert von 7, direkt am Interferom. abgeles.	2516
9. Differenz zwischen 7 und 8	-32

Versuch.

Hier wurde 40fach verdünntes Pferdeserum benutzt; die Verdünnung erfolgte nicht mit 0,85 prozentigem NaCl, sondern zum Teil mit Aq. dest., um einen niedrigeren IW zu erzielen. Von dieser Pferdeserumlösung wurden 50 ccm mit 50 ccm Thorlösung (IW=575) vermischt, worauf starke Flockung eintrat; die überstehende Flüssigkeit blieb aber leicht trübe, war jedoch direkt interferometrierbar. Das Präzipitat wurde zuerst in 100 ccm einer zweiten Thorsulfatlösung (IW=1544) verteilt, löste sich aber nicht, so daß nun zu dieser Mischung neuerlich 100 ccm einer dritten Thorlösung (IW=2206) zugesetzt werden mußten. Erst jetzt trat innerhalb von etwa 10 Stunden, also ziemlich langsam, komplette Lösung ein. Trotz der vielen Manipulationen war die erzielte Uebereinstimmung zwischen Beobachtung und Erwartung recht befriedigend:

Interferometerwerte:

1. $\frac{1}{40}$ Pferdeserum	734
2. 1. Thorlösung	575
3. Gemisch aus je 50 ccm 1 und 2	654,5 ber.
4. Ueberstehende Flüssigkeit	376

Interferometerwerte

5. Präzipitat, aus 3 und 4 berechnet	278,5 ber.
6. „ verteilt in 100 ccm Thorlösung von IW 1544	1822,5 „
7. Mischung 6, geklärt durch Zusatz von 100 ccm Thorlösung vom IW 2206	2014 „
8. Wert von 7, direkt abgelesen	2010
9. Differenz zwischen 7 und 8	-4

Berücksichtigt man die Fehlerquellen, welche sich bei den verschiedenen Prozeduren des Ansatzens der Reaktion, des Absaugens der überstehenden Flüssigkeit, des Wiederauffüllens mit der die Dispersion der Präzipitate bewirkenden Thorlösung ergeben, und stellt man dieselben der übermäßigen Empfindlichkeit des Interferometers gegenüber, so kann man wohl behaupten, daß die Abnahme des IW im Reaktionsgemisch durch die Entstehung des Niederschlages erklärt wird und daß der durch die Flockung hervorgerufene Substanzverlust (optisch gemessen) im Präzipitate fast quantitativ nachweisbar erscheint; bei Messungen mit dem Pulfrich'schen Refraktometer würden Differenzen von -32 bis -4 Trommelteilen zwischen Beobachtung und Berechnung überhaupt nicht zum Ausdruck kommen. Immerhin fiel es auf, daß bei sehr zahlreichen Versuchen dieser Art (vgl. auch weiter unten) die gefundene Differenz stets das gleiche Vorzeichen hatte, d. h. daß für das Präzipitat scheinbar stets kleinere IW beobachtet wurden als man erwartete, niemals größere. Eine analoge Erscheinung wurde aber auch konstatiert, wenn man das Verhältnis des Reaktionskomponenten so wählte, daß sich gar keine Flockung einstellte; es blieb dann der IW des Gemisches hinter dem berechneten Mittel zurück, selbst wenn nicht einmal eine wesentliche Transparenzverminderung erfolgte. Die Ursache der Differenz liegt also offenbar gar nicht im Präzipitat, sondern in der überstehenden Flüssigkeit, für welche die optische Messung selbst bei ausbleibender Flockung zu kleine Ziffern liefert. Auf die möglichen Ursachen des geschilderten Verhaltens werde ich an anderer Stelle detaillierter eingehen.

Weiter bemerkt man, daß Thorsulfat unter Umständen einen sehr großen Teil des Serumeiweißes ausfällt, daß aber die sedimentierenden Substanzmengen je nach den quantitativen Reaktionsbedingungen variieren. Ersetzt man das Thorsulfat des Systemes bei gleichbleibender Menge (Konzentration) des Serumeiweißes durch Cerochlorid, so wird die optisch meßbare Substanzmasse des Präzipitates geringer, auch wenn man die Cer-Konzentration stark erhöht (stärkere Fällungskraft der Thor-Ionen).

Versuch.

Je 10 ccm Pferdeserum (1:20 0,85proz. NaCl-Lösung) wurden mit je 10 ccm Thorsulfatverdünnung (in 0,85proz. NaCl) versetzt. Die IW der Reaktionskomponenten betrugen:

	Interferometerwerte:
für $\frac{1}{20}$ Pferdeserum	2343
" 0,5 proz. Thorlösung	1515
" ca. 0,25 " "	784
" " 0,166 " "	531
" " 0,125 " "	386
" " 0,1 " "	335
" " 0,05 " "	175

- a)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,5 proz. Thorlösung
aa 10 ccm 1929 ber.
 - Das Gemisch blieb fast ganz klar, der IW desselben betrug direkt abgelesen 1888
 - Differenz zwischen Beobachtung und Berechnung - 41

- b)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,25 proz. Thorlösung
aa 10 ccm 1563,5 "
 - Das Gemisch war sehr stark trübe, schied aber kein Präzipitat ab; es konnte erst nach vierfacher Verdünnung mit 0,85proz. NaCl interferometriert werden und hatte den aus dieser Ablesung ermittelten IW von -1445
 - Die Differenz war demnach -118,5 "

c)
 $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,166 proz. Thorlösung aa 10 ccm war noch stärker getrübt als b, schied aber gleichfalls kein Präzipitat aus.

- d)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,125 proz. Thorlösung
aa 10 ccm 1364 ber.
 - Das Gemisch flockte aus, die überstehende stark trübe Flüssigkeit hatte 672
 - Präzipitat berechnet als Differenz aus 1 u. 2 692 "

- e)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,1 proz. Thorlösung
aa 10 ccm 1339 "
 - Präzipitation; überstehende, leicht trübe Flüssigkeit 380
 - Differenz berechnet aus 1 u. 2 (= Präzipitat) 959 "
 - Präzipitat, aufgelöst in 20 ccm Thorlösung vom IW 1515 2474 "
 - Wert von 4 direkt abgelesen 2408 "
 - Differenz von 4 u. 5 - 66

- f)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,05 proz. Thorlösung
aa 10 ccm 1259 "
 - Überstehende Flüssigkeit 348
 - Präzipitat, berechnet aus 1 u. 2 911

Versuch.

Dieser Versuch wurde mit dem gleichen Pferdeserum und sechs verschiedenen Verdünnungen von Cerochlorid in 0,85proz. NaCl in gleicher Weise angestellt. Die Cerochloridlösungen hatten nachstehende IW: ca. 1 proz. Cerochlorid (durch Verdünnen bestimmt) 4212

ca. 0,6 proz. Cerochlorid	Interferometerwerte:
" 0,5 " "	2600
" 0,333 " "	2106
" 0,2 " "	1375
" 0,1 " "	816
" 0,1 " "	408

- a)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 1 proz. Cerochlorid
aa 10 ccm 3277,5 ber.
 - Präzipitat, aufgelöst in Thorsulfat (1515) 1840
 - " allein (2. minus Thorwert) 325

- b)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,6 proz. Cerochlorid
aa 10 ccm 2471,5 "
 - Überstehende Flüssigkeit 2143
 - Präzipitat als Differenz aus 1 u. 2 berechn. 328,5 "
 - " aufgelöst in Thorsulfat (1515) 1843,5 "
 - " " beobachtet 1825
 - Differenz zwischen Berechnung und Beobachtung -18,5 "

- c)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,5 proz. Cerochlorid 2224,5 "
 - Überstehende Flüssigkeit 1917
 - Präzipitat, berechn. als Differenz von 1 u. 2 307,5 "
 - " aufgelöst in Thorsulfat (1510) 1817,5 "
 - Wert von 4, beobachtet 1782
 - Differenz von 4 und 5 -35,5 "

- d)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,333 proz. Cerochlorid
aa 10 ccm 1859
 - Überstehende Flüssigkeit 1557
 - Präzipitat, berechn. als Differenz von 1 u. 2 302
 - " aufgelöst in Thorsulfat (1510) 1812
 - Wert von 4, beobachtet 1740
 - Differenz von 4 und 5 -70

- e)
- $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,2 proz. Cerochlorid 1579,5 ber.
 - Überstehende Flüssigkeit 1342
 - Präzipitat, Differenz von 1 u. 2 237,5 "
 - " aufgelöst in Thorsulfat (1515) 1752,5 "
 - Wert von 4, beobachtet 1709
 - Differenz von 4 und 5 -43,5

f)
 $\frac{1}{20}$ Pferdeserum + 0,1 proz. Cerochlorid aa 10 ccm bleibt ganz klar.

Die Gegenüberstellung von Thorfällungen und Cerfällungen ergibt also für die IW der Präzipitate folgende Zahlen; wobei die Reaktionsvolumina stets gleich 20 ccm und die Konzentration des Pferdeserums gleich 1:40 gehalten worden war:

Konzentration	Cerochlorid	Thorsulfat
Proz.		
0,5	325	—
0,3	347	—
0,25	343	—
0,1665	372	—
0,125	—	—
0,1	281	—
0,083	—	—
0,0625	—	692
0,05	—	1025
0,025	—	911

Zone des relativen Überschusses von Thorsulfat

Zone d. relativen Überschusses von Pferdeserum

Sehr interessant verhielt sich die Immunpräzipitation, welche ich viermal mit dem Interferometer analysierte. Die Reaktionsvolumina waren ebensogroß, wie bei den eben geschilderten Kolloidmodellen, nämlich gleich 20 ccm. Um möglichst ausgiebige Präzipitationen zu erreichen, wurden hochwertige Antimenschensera von Kaninchen (Nr. 43 u. Nr. 8) verwendet, welche mit hinreichend verdünntem ($\frac{1}{400}$ — $\frac{1}{800}$) Menschenserum nahezu momentan und schon bei Zimmertemperatur reagierten, wobei zunächst Trübungen entstanden, die sich rasch zu Flocken verdichteten; nach zwei bis mehrstündigem Zuwarten war Sedimentierung und Bildung einer klaren überstehenden Flüssigkeit eingetreten. Die Sedimente wurden mit der Zentrifuge komprimiert, von den überstehenden Flüssigkeiten sorgfältig abgetrennt und in Thorsulfatlösungen von bekanntem IW dispergiert. Da Präzipitate nur bei relativ hoher Konzentration des Immunserums auftreten, niedrige Verdünnungen von Kaninchenserum mit 0,85 prozentiger NaCl-Lösung jedoch mit dieser NaCl-Lösung im Interferometer nicht mehr verglichen werden können, wurde den Immunserum-(Präzipitin-)Verdünnungen soviel destilliertes Wasser zugesetzt, bis sie gegen 0,85 proz. NaCl ablesbare Interferometerwerte gaben.

Versuch.

	Interferometerwerte:
1. $\frac{1}{200}$ Menschenserum (verdünnt mit 0,85 proz. NaCl)	271
2. $\frac{1}{20}$ Serum Kaninchen Nr. 43 (verdünnt mit 0,85 proz. NaCl)	1992
3. $\frac{1}{200}$ Menschenserum + $\frac{1}{20}$ Serum Nr. 43 aa 10 ccm	1131 ber.
4. Ueberstehende Flüssigkeit, beobachtet nach 24 Stunden	1020
5. Präzipitat, Differenz aus 3 und 4	111 „
6. Thorsulfatlösung (1 Proz. in Aq. dest.)	31
7. Präzipitat, aufgelöst in dieser Thorsulfatlösung	142 „
8. Wert von 7, direkt abgelesen	114
9. Differenz zwischen Berechnung und Beobachtung	-28

Versuch.

1. Menschenserum wie im Vorversuch	271
2. Konzentriertere Lösung von Serum 43 (mit Aq. dest.)	2950
3. 1 und 2, aa 10 ccm	1611 ber.
4. Ueberstehende Flüssigkeit, abgelesen nach 2 Stunden	1328
5. Präzipitat, berechnet aus 3 und 4	283
6. 5 aufgel. in Thorsulfatlösung (IW = 31)	314 „
7. 6 direkt abgelesen	262
8. Differenz zwischen 6 und 7	-52

Versuch.

1. $\frac{1}{200}$ Menschenserum (andere Probe!)	263
2. Serum Kaninchen Nr. 8 (verdünnt mit Aq. dest. sehr konz.!)	2436

Interferometerwerte:

3. Gemisch von 1 und 2, aa 10 ccm	1349,5 ber.
4. Ueberstehende Flüssigkeit	893
5. Präzipitat, berechnet als Differenz von 3 und 4	456,5 „
6. Präzipitat, aufgelöst in 1 proz. Thorsulfat (IW = 31)	487,5 „
7. Wert von 6, beobachtet	440
8. Differenz von 6 und 7	-47,5

Versuch.

1. $\frac{1}{400}$ Menschenserum (andere Probe!)	144
2. Serum Kaninchen Nr. 8 wie im Vorversuch	2436
3. Gemisch von 1 und 2, aa 10 ccm	1290 ber.
4. Ueberstehende Flüssigkeit	912
5. Präzipitat, aus 3 und 4 berechnet	378 „
6. Thorsulfatlösung in 0,85 proz. NaCl	1820
7. Präzipitat, aufgelöst in dieser Thorsulfatlösung	2198 „
8. Wert von 7, direkt beobachtet	2155
9. Differenz von 7 und 8	-43

Die beobachteten optischen Werte der spezifischen Immunpräzipitate betrugen somit 139, 335, 504 und 421 Trommelteile, gaben also, absolut betrachtet, den mit Salzen von seltenen Erden erzielten nicht viel nach, ja sie übertrafen die Cer-Präzipitate sogar in zwei Fällen. In Prozenten der zur Reaktion gebrachten Eiweißmengen ausgedrückt würden sich allerdings die spezifischen Präzipitate niedriger stellen als bei den Kolloidmodellen, speziell im zweiten, dritten und vierten Versuch, wo sich die Serumkonzentration im Reaktionsgemisch wegen des erforderlichen Ueberschusses an präzipitierendem Kaninchenserum nicht auf 1:40, sondern etwa auf 1:20 bis 1:15 belief. Im übrigen glich die Immunpräzipitation außerordentlich dem Kolloidmodell, gleichgültig ob die Bestimmungen bald nach der Vermischung der beiden Sera oder mehrere (bis 24 Stunden) später vorgenommen wurden. Die Differenzen zwischen dem errechneten und den (nach Wiederauflösung) beobachteten IW der Präzipitate schwankten zwischen 28 und 52 Trommelteilen, waren also durchaus nicht größer als bei den Kolloidmodellen und hatten, was mir wichtig zu sein scheint, das gleiche Vorzeichen, d. h. der beobachtete Wert war stets etwas kleiner als der aus dem IW der überstehenden Flüssigkeit und dem erwartungsgemäßen arithmetischen Mittel der Reaktionskomponenten errechnete. Vermutlich liegt auch hier die Sache so, daß bei der Immunitätsreaktion der IW des Reaktionsgemisches selbst bei ausbleibender Flockung gleichfalls kleiner gefunden wird, ähnlich wie beim Kolloidmodell; Beobachtungen hierüber sollen nachgetragen werden.

Da bei den hier gewählten Kolloidmodellen bakterielle Verunreinigungen ebenso ausge-

schlossen waren wie fermentative Prozesse, so darf der Parallelismus dieser Kolloidmodelle mit spezifischen Präzipitationsvorgängen wohl in dem Sinne interpretiert werden, daß auch für die letzteren ein enzymatischer Abbau des Eiweißantigens als Ursache der Eiweißflockung nicht notwendig in Betracht kommt. Damit soll nicht in Abrede gestellt werden, daß derartige Abbauprozesse als sekundäre Erscheinungen z. B. bei langem Stehen eines Reaktionsgemisches von Eiweißantigen und Antiserum bei 37° C gelegentlich beobachtet werden können.

Zusammenfassung.

1. Die hier untersuchten Salze seltener Erden (Thorium, Cer, Praseodym, Lanthan) agglutinieren Suspensionen von Zellen (roten Blutkörperchen, Bakterien, Schimmelpilzsporen) und geben mit Eiweißsolen Präzipitation (R. Mines). Das ist auch dann der Fall, wenn das Salz nicht kolloid, sondern wie ein typisches Kristalloid gelöst ist und wenn es in der Lösung nicht hydrolytisch dissoziiert wird.

2. Agglutination und Präzipitation treten noch bei sehr niedrigen Salzkonzentrationen auf (1 Teil Thoriiumsulfat auf 5 000 — 10 000 Teile Reaktionsgemisch). Vierwertige Kationen (Thorium) wirken stärker als dreiwertige (La, Ce, Pr); doch hängt die flockende Kraft nicht allein von der Wertigkeit, sondern auch von anderen noch unbekannten Eigenschaften des Kations der seltenen Erde ab, sowie auch von der speziellen Beschaffenheit der flockbaren Eiweißkörper (verschiedene Agglutinabilität verschiedener Bakterienarten durch das gleiche Salz).

3. Die untersuchten Salze sind für pflanzliches und tierisches Protoplasma toxisch. Die Giftigkeit wird anscheinend durch die Wertigkeit des Kations (Thor giftiger als Cer), durch seine sonstige Natur und durch die Empfindlichkeit der lebenden Zelle beeinflusst; verschiedene Zellen sind verschieden empfindlich (Spirochaeten erwiesen sich als weit resistenter als Trypanosomen oder Typhusbazillen). Der Mechanismus der Vergiftung kann nicht auf einer einfachen Eiweißflockung beruhen; denn die Eiweißflockung ist im Ueberschuß von Eiweiß reversibel (Punkt 6), die Vergiftung nicht (im Texte nicht zitierte Versuche mit Naganatrypanosomen).

4. Sporen von Bakterien und Schimmelpilzen werden wegen der Impermeabilität ihrer Membranen nicht angegriffen. Die leichte Agglutinierbarkeit dieser Formen deutet darauf hin,

daß alle Arten von Zellagglutinationen Oberflächenvorgänge darstellen.

5. Die Eiweißflockung durch Salze seltener Erden wird durch den relativen Ueberschuß einer Reaktionskomponente gehemmt. Bei einem für die Flockung optimalen gegenseitigen Verhältnis von Eiweiß und Salz existiert eine Konzentrationsschwelle (minimale Salzkonzentration), unterhalb welcher die Flockung ausbleibt. Diese Schwelle liegt für die Thorkationen wesentlich niedriger als für Cero-, Pr- oder gar La-Ionen, ist also für die Ionen der seltenen Erden verschieden.

6. Die Flockung beruht auf der Entstehung lockerer Verbindungen von Eiweiß und Salz (Thor-, Cer-Albuminaten) ähnlich wie bei den Eiweißflockungen durch Schwermetalle. Diese Verbindungen sind kolloidchemisch inaktiv und so wie die Verbindungen mit Schwermetallen (Galeotti) leicht reversibel; sie lösen sich rasch und vollständig im Ueberschusse einer Reaktionskomponente (Eiweißsol oder Salz der Erde). Hierbei können sich die verschiedenen Eiweißarten ebenso wie die Salze verschiedener Erden gegenseitig vertreten, wobei die lösende (dispergierende) Wirkung der Erden-Kationen der fallenden Kraft proportional ist. Thorsalze lösen also weit besser als Ceroverbindungen.

7. Die Analyse solcher Flockungen mit dem Löwe'schen Interferometer ergibt, daß die ausflockenden Substanzmengen nicht nur von der relativen Konzentration, sondern auch vom Kation des Salzes abhängen; sie sind bei Thorflockungen dreimal so groß als selbst bei 20 fach größerer Gewichtsmenge von fallendem Cerochlorid. Der Substanzverlust des Reaktionsgemisches findet sich (optisch bestimmt) nahezu quantitativ in dem durch Thorsulfat wieder dispergierten Präzipitat.

8. Die spezifische Präzipitation gleicht in vieler Hinsicht den Eiweißflockungen durch Thor- und Cerosalze. Sie zeigt dieselbe Abhängigkeit der Niederschlagsbildung vom gegenseitigen Konzentrationsverhältnis der Reaktionskomponenten, wird durch relativen Ueberschuß einer Komponente gehemmt und ist durch die nämliche Reversibilität des Reaktionsproduktes (Präzipitates) charakterisiert. Spezifische Präzipitate lösen sich ebenso wie die durch seltene Erden erzeugten Eiweißkoagel im Ueberschuß der Reaktionskomponenten, in NaOH, in entsprechend konzentriertem Thorsulfat oder anderen Salzen seltener Erden, nicht aber in jedem beliebigen Eiweißsol.

9. Interferometrisch zeigt die Immunpräzipitation dieselben Verhältnisse, wie sie in Punkt 7 für Thor- oder Cer-Flockungen angegeben wurden. Die absoluten Größen und die Vorzeichen der Abweichungen zwischen beobachteten und errechneten IW der Niederschläge stimmen überein. Diese Sachlage macht die Annahme fermentativer Abbauprozesse des Eiweißantigens zur Erklärung der Immunpräzipitation überflüssig.

Literatur.

1. G. R. Mines, Kolloidchem. Beih. 3 (1912).
2. H. Ley, Zeitschr. f. physik. Chemie 30 (1899).

3. G. Galeotti, Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physik. Chemie 40 (1904).
4. P. Hirsch, Fermentforschung 2, Heft 4 (1919); 1 (1914); 2, Heft 3 (1918).
5. K. Langenstraß, Fermentforschung 3, Heft 1 (1920).
6. P. Hirsch, Jenaische Zeitschr. f. Naturw. 56 (1920).
7. A. Simonini, Zentralbl. f. Bakt. 74, I (1914).
8. Biltz, Much u. Siebert, E. v. Behring's Beitr. zur exp. Therapie, Heft 10.
9. Landsteiner u. Jagić, M. m. W. 1904.
10. Girard, Mangin, Henri, Compt. rend. 138 (1904).
11. Frouin und Ledebt, Compt. rend. Soc. Biol. 83, Nr. 5 (1920).
12. Frouin u. Moussali, Compt. rend. Soc. Biol. 82, Nr. 24 (1919).

Untersuchungen über antagonistische Wirkungen zwischen Ionen gleicher Ladung.¹⁾

(Eingegangen am 6. August 1920.)

Von S. M. Neuschloß.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Budapest.)

I. Einleitung.

Im folgenden sollen Untersuchungen dargestellt werden, welche sich auf antagonistische Wirkungen bei neutralen Elektrolyten beziehen.

Unter Ionenantagonismus wird die Erscheinung verstanden, bei welcher die gleichgerichteten Einzelwirkungen zweier gleichgeladener Ionen sich gegenseitig aufheben oder zumindest einschränken. Die Valenz der hierbei beteiligten Ionen ist im Prinzip nebensächlich. Da diese Untersuchungen eigentlich zur Deutung gewisser biologischer Erscheinungen unternommen worden sind, bei welchen den Kationen die ausschlaggebende Rolle zufällt, erstrecken sich dieselben lediglich auf die letzteren. Ob ähnliche Erscheinungen auch bei Verwendung verschiedener Anionen zutage treten, müssen weitere Untersuchungen entscheiden.

Erscheinungen, die unter den oben beschriebenen Begriff des Ionenantagonismus fallen würden, sind in der Literatur nur wenige erwähnt. Daß zwei ungleichwertige Kationen sich in ihrer fallenden Wirkung auf ein negatives

Arsensulfid sol nicht einfach additiv verhalten, während dies bei gleichwertigen Kationen der Fall ist, geht bereits aus einer Arbeit von Linder und Picton²⁾ hervor. Ihre Versuche zeigten, daß, um eine vollkommene Fällung herbeizuführen, von dem einen Kation größere Mengen nötig sind, als man unter der Voraussetzung einer Addition voraussetzen würde. Auch Pauli³⁾ meint bei seinen Studien über Elektrolytfällung an Eiweiß einen gewissen Grad von Antagonismus zwischen der Wirkung der Alkali- und Erdalkalisalze gefunden zu haben. Ob dies nun tatsächlich der Fall ist, läßt sich allerdings meines Erachtens bei der unübersichtlichen Art, auf welche Pauli seine Versuchsergebnisse wiedergibt, schwer beurteilen. Dasselbe läßt sich auch von dem von Koch⁴⁾ beobachteten Ionenantagonismus bei der Elektrolytfällung von Lezithin sagen.

Neuerdings hat nun Lenk⁵⁾ eine größere Arbeit über die „Bedeutung der Elektrolyte für Quellungsprozesse“ veröffentlicht, in welcher er sich auch eingehend mit den antagonistischen Ionenwirkungen beschäftigt. Er meint, in dem Vorgange, nach welchem Elektrolytgemische die Quellung einer Gelatinegallerte beeinflussen, Ionenantagonismus nachgewiesen zu haben. Wenn wir aber seine Versuchs-

¹⁾ Der größte Teil dieser Untersuchungen, welche von biologischen Fragestellungen ausgehend unternommen worden sind, ist ausführlich in einer Reihe von Arbeiten in Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie 181 (1920) veröffentlicht worden. An dieser Stelle werden die Ergebnisse derselben, soweit sie auch für den Nichtbiologen von Interesse sein können, einer Aufforderung seitens der Schriftleitung der „Kolloid-Zeitschrift“ entsprechend, nunmehr lediglich von kolloidchemischen Gesichtspunkten aus dargestellt.

²⁾ Linder u. Picton, Journ. chem. Soc. 67 (1895).

³⁾ Wo. Pauli, Hofmeister's Beiträge 3 (1903) und 5 (1904).

⁴⁾ W. Koch, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37 (1902).

⁵⁾ E. Lenk, Biochem. Zeitschr. 72 (1916).