

## II. Aus der I. medicinischen Universitätsklinik in Berlin. (Director: Geh.-Med.-Rath Prof. Dr. v. Leyden.)

### **Pneumococcenschutzstoffe.<sup>1)</sup>**

Von Dr. M. Wassermann.

Im Vordergrund des allgemeinen Interesses stehen in den letzten Jahren die Arbeiten über Immunität, besonders aber die Veränderungen, die dabei im Blutserum auftreten. In Folge der praktischen Erfahrungen mit dem Diphtherieheilserum hat man versucht, auch andere Immunsera herzustellen. Es zeigte sich dabei, dass sich nicht alle Sera gleich verhalten, sondern dass man specifisch antitoxische und specifisch bactericide unterscheiden müsse.

Jedoch gingen die Meinungen darüber auseinander, auf welche Weise die antitoxischen oder bactericiden Stoffe, die specifischen Antikörper, bei der Immunisirung in das Serum gelangen.

Buchner vertrat die Ansicht, dass die Antitoxine aus den specifischen Bacterienzellsubstanzen entstehen, bei der Immunisirung es sich also um ein Aufstapeln specifischer Bacterienproducte vielleicht unter Mitwirkung der im Körper stattfindenden Reactionsvorgänge handle.

Behring dagegen hielt die Antikörper des Serums für selbstständige Reactionsproducte des Organismus, ohne sich über den Ort der Bildung näher auszusprechen.

Ehrlich sprach sich in einer Theorie dahin aus, dass die Antitoxine bestimmte Theile von Zellen seien, zu welchen das Gift eine bestimmte Bindungsaffinität besitzt, und als solche beim Immunisirungsvorgang in das Blut secernirt werden.

A. Wassermann in Gemeinschaft mit Takaki gelang es diese Theorie alsdann speziell für den Tetanus wahrscheinlich zu machen, indem er die tetanusantitoxische Kraft des Centralnervensystems vom gesunden Thiere experimentell nachweisen konnte.

Für die bactericiden Stoffe, und zwar für die Cholerenschutzstoffe, konnten R. Pfeiffer und Marx, für die Typhusschutzstoffe gleichzeitig A. Wassermann den Beweis bringen, dass sie in den blutbildenden Organen entstehen.

Eine weitere Infection, welche bei uns sehr verbreitet ist, steht mit der Immunität in innigster Beziehung, nämlich die Pneumo-

cocceninfection. Wir sehen fast gesetzmässig nach einer bestimmten Zeit einen plötzlichen Umschwung des Allgemeinbefindens, die Krise, eintreten, trotzdem sich im Organismus noch oft virulente Coccen vorfinden.

Und wirklich sind bei der Pneumonie die mit der Immunität einhergehenden Veränderungen des Blutserums, das Vorhandensein von Antikörpern in demselben auf der Leyden'schen Klinik von G. und F. Klemperer nachgewiesen worden.

Diese Autoren und nach ihnen viele andere konnten zeigen, dass bei Kaninchen nach Vorbehandlung mit abgeschwächten oder kleinen Dosen lebender, vollvirulenter Pneumococcen oder auch mit grösseren Quantitäten abgetödteter Culturen Immunität eintritt, und weiterhin, dass das Serum der so activ immunisirten Kaninchen andere empfängliche Thiere gegenüber der Pneumococceninfection zu schützen vermag. G. und F. Klemperer konnten ferner darlegen, dass auch bei dem mit Pneumococcen inficirten und genesenden Menschen die gleichen Stoffe im Blutserum auftreten und dass mit dem Erscheinen dieser Schutzstoffe klinisch die Krise zusammenfällt.

Nachdem ich die Immunisirung von Kaninchen auf Grund von eigenen Versuchen bestätigen konnte, war die Frage zu entscheiden, ob nicht auch gegenüber der Pneumococceninfection der Nachweis gelänge, dass die Antikörper Producte der Zellen seien und in specifischen Organen regelmässig gebildet werden. Bei dieser kritisch eintretenden Immunität schien die Lösung der Frage, ob zu einem gewissen Zeitpunkt in bestimmten Organen mehr Antikörper enthalten sind als im Blute, relativ leicht möglich zu sein, eine weitere Ergänzung zu den oben erwähnten Arbeiten von R. Pfeiffer und A. Wassermann.

In der That konnte ich als Bildungsstätte der immunisirenden und die Selbstheilung bewirkenden Körper ein bestimmtes Organ des thierischen Organismus nachweisen. Durch den Infectionserreger, den Fraenkel'schen Pneumococcus, entsteht im Knochenmark ein specifischer Reiz, der die Bildung specifischer Antikörper verursacht. Die Production der Antikörper vollzieht sich ziemlich gesetzmässig innerhalb einer bestimmten Zeit der Reizdauer. Die Zeit, bis die Antikörper in hinreichender Menge gebildet sind, ist die Akme der Erkrankung. Im Anfangsstadium der Antikörperbildung finden sich die Schutzkörper gegen die Pneumococceninfection hauptsächlich im Knochenmark, insofern dasselbe trotz noch vorhandenen Bacteriengehalts in der Regel nicht mehr infectiös wirkt, dagegen vermöge seines Antikörpergehalts schon schützende Kräfte entfaltet. Die Antikörper treten nach dem dritten bis fünften Krankheitstage aus den Bildungsstätten rasch hinaus in die Blutbahn und von dort in alle Organe. Sobald die Ueberschwenkung des Blutes mit Schutzkörpern erfolgt ist, erweisen sich sämtliche Organe, anderen Thieren einverleibt, als nicht mehr infectiös. Der Organismus ist eben von der bacteriellen Schädigung geheilt; im Allgemeinbefinden bekundet sich dieser Zustand durch die Entfieberung. So verhalten sich im wesentlichen die biologischen Vorgänge bei der gewöhnlichen Erkrankung und der spontanen Heilung, welche nichts anderes ist, als ein Reactionsprozess gewisser Zellen gegen die Infection.

Bei der Immunisirung wird dagegen durch wiederholte und immer wieder gesteigerte Reizwirkung die Function des reagirenden Organs erhöht; durch Umwandlung von Fettmark in rothes, wirksames Knochenmark entsteht eine Anpassung an die erhöhten Anforderungen und damit gleichsam eine Hypertrophie des Schutzkörper bildenden Organs.

Ueberlässt man einen gegen Pneumococcen immunisirten Organismus sich selbst, so nimmt zuerst die Schutzkraft der Antikörperbildungsstätte ab, weil dort kein specifischer Reiz zur Antikörperproduction mehr vorhanden, die gebildeten Schutzstoffe aber bereits grösstentheils in den Kreislauf abgegeben sind; im Blute erhalten sich aber die Antikörper noch lange Zeit.

Es sei mir nun gestattet, auf den Verlauf meiner Experimente näher einzugehen, die mir die eben ausgeführten Resultate ergaben.

Als Versuchsthiere benutzte ich Kaninchen und Mäuse, welche durch die Infection mit dem Pneumococcus eine allgemeine Septicämie bekommen. Nachdem ich festgestellt hatte, dass Mäuse durch subcutane Einverleibung von 0,001 ccm einer mit 10 ccm Bouillon abgeschwemmten virulenten eintägigen Agarcultur innerhalb zwei bis drei Tagen sicher getödtet werden, suchte ich dieselben zu schützen.

Zu diesem Zwecke bediente ich mich der Organauszüge ge-

<sup>1)</sup> Nach einem im Verein für innere Medicin gehaltenen Vortrage.

sunder Kaninchen. Ich verrieb 1 g der einzelnen Organe mit 5 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung und injicirte von diesem Organbrei dann Mäusen je 0,8—1 ccm. Hierbei stellte sich heraus, dass die Auszüge keines einzigen Organs die nachträgliche Infection der Mäuse mit 0,1 ccm Pneumococcenabschwemmung in irgend einer Weise beeinflussen konnten. Fast sämtliche Versuchsmäuse starben sogar schneller als die nicht vorbehandelten Controllthiere.

Es waren also in keinem Organe des gesunden Kaninchens Schutzstoffe gegen den Pneumococcus zu finden.

Wie verhielt es sich nun mit den Organen des die Krankheit überstandenen, respective immunisirten und des kranken Thieres? Ich immunisirte Kaninchen mit kleinsten und allmählich ansteigenden Dosen virulenter Pneumococcen. Bei einem circa vier Wochen dem Immunisierungsverfahren unterzogenen und noch drei Tage vor der Tödtung durch Verblutenlassen mit der letzten Dosis behandelten Kaninchen zeigte sich nun eine hohe schützende Kraft des Blutserums. 0,8—1 g Serum schützte eine Maus gegen eine 24 Stunden nach der Serumjection vorgenommene Infection mit 0,4 ccm Culturabschwemmung, also gegen die circa 400fache Dosis letalis, dagegen konnte die gleiche Serummenge gegen 0,5 ccm Cultur nicht mehr schützen. Die Schutzwirkung des Knochenmarkes erwies sich aber noch viel stärker als die Schutzkraft des Serums; denn 0,2 g Mark (1 g mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben) schützte sämtliche Mäuse sowohl gegen 0,2 wie 0,1 ccm Culturabschwemmung, das heisst gegen die 200- bis 100fache Dosis letalis. Gegen 0,4 und 0,5 ccm Cultur dagegen erwiesen sich 0,2 g Mark als unwirksam. Die Schutzkraft des Knochenmarkes verhielt sich also zur Schutzkraft des Serums wie 1000:400.

Das Knochenmark übertraf also die Wirkung des Serums um das 2 $\frac{1}{2}$ fache.

Ferner zeigten sich deutlich schützende Eigenschaften vor allem in der Thymus (0,2 g schützte gegen 0,1 ccm Cultur). Verzögerung, aber keinen Schutz gewährte die Injection von Milz und Lymphdrüsen. Weder Schutz noch Verzögerung wurde durch die Injection von Niere, Nebenniere, Lunge, Gehirn, Leber, Ovarium erzielt.

Bei einem anderen Kaninchen, welches 23 Tage dem Immunisierungsverfahren ausgesetzt war, die letzte Infectionsdosis aber sieben Tage vor dem Verblutenlassen und der Verarbeitung der Organe bekommen hatte, zeigten sich ähnliche Verhältnisse.

1 g Blutserum und nach der Buchner'schen Methode, wie von Pfeiffer und Marx in der Choleraarbeit gewonnene leukocytenreiche Pleuraexsudate schützten bis gegen 0,4 ccm Culturabschwemmung; 0,2 g Knochenmark aber gegen 0,1 ccm Pneumococcen; 0,2 g Milz, Thymus und Lymphdrüsen verzögerten den Tod um einen bis sechs Tage gegenüber den Controllmäusen; 0,2 g Leber beeinflusste die nachträgliche Infection mit 0,1 ccm Cultur nicht.

Das Knochenmark übertraf also alle anderen Organe an Antikörperwirkung; jedoch zeigten auch die übrigen blutbildenden Organe, wie Thymus, Milz und Lymphdrüsen Beeinflussung der Infection. Ich musste aus diesen Versuchsergebnissen schliessen, dass der hämatopoëtische Apparat entweder die Antikörper bilde oder als Aufstapelungsort derselben diene; denn ihr Antikörpergehalt konnte nicht auf die Antikörper ihres Blutserumgehalts zurückgeführt werden, da durch die Art der Tödtung des Thieres eine Blutleere der Organe erzeugt worden war, der Blutgehalt der Organe aber auch unter gewöhnlichen Verhältnissen nur einen gewissen Procentgehalt derselben ausmacht. Dazu kommt noch, dass das Blut überhaupt nur die Hälfte der Serumantikörper enthält, also schon aus diesem Grunde eine in Betracht kommende spezifische Wirkung des Organserums auszuschliessen war. Ebenso blutreiche Controllorgane, wie zum Beispiel die Lungen, entfalteten übrigens keine Schutzkraft; mit der Zunahme der Antikörper des Blutserums war ferner eine Abnahme der Antikörper der schützenden Organe zu constatiren.

Die Antikörper müssen sich also in der Substanz der Organe selbst befinden.

Ein Studium der Verhältnisse des noch nicht durch wiederholte Injectionen immunisirten, sondern durch eine einzige Vorbehandlung beeinflussten Kaninchens liess weitere Aufschlüsse über die Schutzkörperbildung erwarten.

Zu diesem Zwecke wurden 1, 2, 3, 4 und 5 Tage nach der ersten Injectionsdosis alle Organe und das Serum des Kanin-

chens quantitativ auf ihre Schutzwirkung untersucht. Dabei war von vornherein klar, dass wir nicht dieselbe Schutzkraft zu erwarten hatten, wie beim Wochen lang vorbehandelten Thiere.

Während nun am ersten und zweiten Tage nach der Infection die Organ- und Serumjection an und für sich die Mäuse ohne Nachinfection tödtete, zeigte sich bei einem Kaninchen, welches am dritten Tage nach der Infection verarbeitet wurde, im Blutserum, im Knochenmark, in den Mesenterialdrüsen und der Milz bereits die nachträgliche Infection von Mäusen verzögernde Wirkung, während die Controllorgane Niere und Lunge keinen Einfluss auf die Infection zeigten, und zwar verzögerte das Knochenmark 0,2 g den Tod von einer Maus um fünf Tage, die Lymphdrüsen 0,2 g um vier Tage, die Milz 0,2 g um einen Tag, das Serum 1 g um zwei Tage gegenüber den Controllthieren.

Also im Anfangsstadium der Antikörperbildung zeigte sich vor allem hinwiederum die Schutzkraft des Knochenmarks, aber auch die Organe des lymphatischen Apparates übertrafen den Antikörpergehalt des Blutserums.

Weitere Versuche zeigten, dass es glücken könne, Kaninchen in einem Stadium zu tödten, in welchem sich im Blutserum noch keine Schutzkörper, wohl aber in den blutbildenden Organen nachweisen lassen. Es muss also in den blutbildenden Organen entweder in ihrer Gesamtheit oder zum Theil die Antikörperbildung sich vollziehen.

Bei einem Kaninchen, welches am vierten Tage nach der Infection getödtet wurde, zeigte sich nun eine isolirte Wirkung des Knochenmarks, insofern 0,2 g desselben gegen die nachträgliche Infection von 0,1 und 0,2 ccm Culturabschwemmung zu schützen vermochte, während die übrigen Organe und das Serum gegenüber gleichen Infectionsdosen noch keinen Antikörpergehalt erkennen liessen.

Ein gleichzeitig mit derselben Dosis geimpftes Kaninchen, welches am fünften Tage nach der Infection verarbeitet wurde, zeigte dagegen keine Schutzkraft des Knochenmarks, wohl aber eine die nachträgliche Infection verzögernde Wirkung der Lymphdrüsen, Thymus und Milz. Das Serum liess noch keine Schutzstoffe erkennen.

Die Schutzstoffe haben eben im ersten Fall nach dem vierten Tage ihre Bildungsstätte, das Mark, noch nicht verlassen, im zweiten Fall nach dem fünften Tage sind sie schon in die wohl als Fangapparate dienenden lymphatischen Organe, in die Lymphdrüsen, Thymus und Milz eingetreten.

Aus diesen Versuchen würde also hervorgehen, dass das Knochenmark die Bildungsstätte der Antikörper, die Lymphdrüsen, die Thymus und die Milz dagegen nur Reservoirs derselben vorstellen.

Erwähnenswerth erscheint mir auch der Umstand, im menschlichen Knochenmark, gewonnen aus dem Femur eines nach circa zwölf Tagen von Beginn der Erkrankung an einer doppelseitigen Pneumonie vor Eintritt der Krisis Erlegenen deutliche Antikörper nachgewiesen zu haben. Ich konnte durch Injection von 0,1 ccm Mark eine Maus gegen die einen Tag später erfolgte Infection von 0,1 ccm Culturabschwemmung vollständig schützen, bei zwei weiteren Mäusen eine Verzögerung des Todes gegenüber den Controllthieren erzielen.

Knochenmark eines nicht an Pneumonie Gestorbenen hatte dagegen keinen Einfluss auf die Pneumococceninfection.

In einem zweiten Fall, nämlich bei einem Pneumoniker, der am 7.—8. Tage der Erkrankung erlegen war, zeigte das Oberschenkelknochenmark noch keine schützende, wohl aber das aus einer Rippe entnommene Mark die Infection verzögernde Eigenschaften, woraus man vielleicht entnehmen könnte, dass in den kurzen Knochen mit ihrem ausschliesslich rothen Mark die Schutzkörper zuerst gebildet werden.

Es wäre somit ein Beweis geliefert, dass auch beim Menschen die Schutzkörper sich in specifischen Organen bilden und wir wohl eine Berechtigung haben, die durch das Thierexperiment erschlossenen Functionen der Antikörperbildung gewisser Organe auch auf den menschlichen Organismus zu übertragen.

Gerade bei der Pneumonie war aber dieser Beweis um so wünschenswerther, als in der Regel die Pneumococceninfection des Menschen nur Erscheinungen von Seiten des Respirationsapparates erzeugt, beim Kaninchen und der Maus dagegen eine allgemeine Infection des Blutes und der Organe erfolgt.

Dass dies aber kein prinzipieller Unterschied, beweisen die

Untersuchungen von Goldscheider, Sittmann, A. Fraenkel, H. Kohn, welche in schwerverlaufenden Fällen auch im menschlichen Blute Pneumococcen nachweisen konnten und die klinischen und postmortal bestätigten Beobachtungen einer Endocarditis und Meningitis pneumonica. (Auch ich konnte kürzlich in einem Falle der I. medicinischen Klinik sowohl auf dem Endocard, wie auf der Synovia der Kniegelenke Pneumococcen nachweisen.)

Beim Kaninchen findet man im Anfange der Erkrankung sämtliche Organe mit Pneumococcen überschwemmt, im Anfangsstadium der Immunität dagegen sind in den schützenden Organen nur mehr sich schlechter färbende Coccen und Reste derselben wahrzunehmen, während gleichzeitig in den nicht schützenden die Infektionserreger noch ihre deutliche Form und volle Tinctionsfähigkeit besitzen. Wir dürften es also bei der Pneumococcenimmunität im wesentlichen mit bactericiden Stoffen zu thun haben.

Im Blute erregen die polynucleären aus dem Knochenmarke stammenden Leukocyten bei der Pneumococceninfektion durch ihre relative und absolute Vermehrung unser Interesse. Die Leukocytose ist ja bekanntlich für die croupöse Pneumonie pathognomonisch, insofern sie differentialdiagnostisch gegen katarrhalische und Influenzapneumonie, namentlich aber gegen Typhus in Betracht kommt. Der Mangel der Leukocytose bietet aber nach den verschiedensten Autoren eine schlechte Prognose (Türk siehe Literatur!).

Da nun nach Ehrlich die polynucleären Leukocyten aus dem Knochenmarke stammen, nach meinen Versuchsergebnissen aber auch die bactericiden Stoffe ein Product des Knochenmarks sind, erscheinen die Leukocytose und die Bildung der Antikörper als parallel verlaufende Functionen des Markes. Jedoch ist der Nachweis nicht erbracht, dass die eine Function von der anderen abhängig sei. Wenn auch die Frage offen gelassen werden muss, ob nicht die Leukocyten des Marks mit der Entstehung der Antikörper etwas zu thun haben, ist es nicht gelungen, den Leukocyten, welche sich in der Circulation befinden, im Anfangsstadium der Immunität specifische Einwirkung auf die Pneumococceninfektion nachzuweisen, so dass der Gedanke fallen gelassen werden musste, als ob vielleicht die specifisch gereizten Leukocyten aus dem Knochenmark die Antikörper heraustransportiren und bei ihrem Zerfall in Freiheit setzen. Es zeigten nämlich weder die Leukocyten des normalen, noch des im Anfangsstadium der Immunität stehenden Kaninchens schützende oder verzögernde Wirkung auf die Pneumococceninfektion der Mäuse, während in letzterem Versuche Mark, Lymphdrüsen, Milz und Serum schon Schutzwirkung erkennen liessen.

Beim längere Zeit dem Immunisirungsprozess unterzogenen Thiere dagegen zeigten auch die weissen Blutkörperchen erhebliche Schutzkraft.

Aus diesen Versuchsergebnissen geht hervor, dass die Leukocyten erst secundär aus dem Blute die Antikörper aufnehmen; denn im Bildungsstadium der Schutzstoffe weisen sie noch keine auf; wenn aber durch immer wiederholte Infectionsreize eine Ueberproduction von Antikörpern in der Bildungsstätte und durch die Abgabe derselben ins Blut darin gleichsam eine Summation stattgefunden hat, zeigen sie ebenfalls Schutzkraft. Dass den Leukocyten an und für sich keine Schutzwirkung zukommt, dafür spricht auch die Erfahrung, dass in den bei der Pneumonie so leukocytenreichen Exsudaten der Lungen und im Auswurfe sich die Pneumococcen gerade oft sehr lange virulent erhalten, ferner die negativen Resultate der Kliniker, durch künstliche Erzeugung von Leukocytose die Infection der Pneumonie beim Menschen zu beeinflussen.

Die Specifität der durch die Pneumococceninfektion erzeugten Veränderungen des Knochenmarks beweist der Umstand, dass das Mark eines mit Typhusbacillen hochimmunisirten Kaninchens, welches ein Meerschweinchen gegen die 20fache Dosis letalis von Typhuscultur schützen konnte, die Pneumococceninfektion von Mäusen nicht beeinflusste.

Wir haben also einen Einblick in die natürlichen Heilungsvorgänge des Organismus gegen die Pneumococceninfektion gewonnen. Unser therapeutisches Handeln muss darauf gerichtet sein, die Wehrfähigkeit des Organismus zu unterstützen.

Als neuer Beweis, dass specifische Antikörper, wie sie ein Product der Immunisirung und die Grundlage der künstlichen und erworbenen Immunität sich in specifischen Organen des thierischen Organismus bilden, werden unsere Untersuchungen auch einem

jüngst in England gethanen Ausspruche Virchow's gerecht, dass die Immunität in dem Zustande der Zellen und ihrer Parenchymsäfte und nicht im Serum oder den Humores begründet sein und der noch obwaltende Streit der Meinungen sich dahin klären dürfte.

Meinem hochverehrten früheren Chef, Herrn Geheimrath v. Leyden, auch an dieser Stelle ergebensten Dank für die gütige Anregung und Unterstützung sowie für das grosse Interesse, welches er der Bearbeitung dieses Themas entgegengebracht hat.