

Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.  
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Koch.)

### Ueber die Wirkungsweise der Antitoxine im lebenden Organismus.

Von Prof. Dr. A. Wassermann und Dr. Carl Bruck.

Die Frage, wie die Antitoxine auf die Toxine im lebenden Organismus wirken, ist nicht nur theoretisch von höchstem Interesse, sondern auch praktisch von der größten Wichtigkeit. Denn nur dadurch sind wir im stande, uns über die Ziele, welche der Serumtherapie gesteckt sind, klar zu werden. In der Tat wurde denn auch dieses Forschungsgebiet sofort nach der Entdeckung der Antitoxine durch v. Behring bis auf den heutigen Tag auf das eifrigste bearbeitet.

v. Behring drückte sich in seiner ersten grundlegenden Arbeit dahin aus, daß die Antitoxine die Toxine unschädlich machen, ohne sich über den Mechanismus dieses Vorganges weiter auszulassen.

Die vielleicht am nächsten liegende Ansicht, daß das Antitoxin das Toxin direkt zerstört, konnte sehr bald durch Versuche von Buchner, Roux, Vaillard, Calmette und des einen von uns ausgeschaltet werden. Insbesondere die Versuche von Calmette an Schlangengift und diejenigen an Pyocyaneusgift zeigten, daß man aus einem für Tiere unschädlichen Toxin-Antitoxin-Gemisch in vitro das Toxin wiedergewinnen kann, daß also dieses letztere unmöglich bei der Mischung mit Antitoxin zerstört worden sein konnte.

Eine andere Ansicht war die, daß das Antitoxin überhaupt nicht direkt auf das Toxin einwirkt, sondern daß diese Einwirkung erst indirekt durch Vermittlung lebender Zellen vor sich gehe. Darnach würde also die Antitoxinwirkung darauf beruhen, daß die empfindlichen Zellen des Organismus durch das Antitoxin sehr rasch gegenüber dem Gifte immunisiert würden. Auch diese Meinung konnte nicht aufrecht erhalten werden.

Es war zuerst Ehrlich, der durch einwandfreie Versuche bewies, daß die Wirkung der Antitoxine auf die Toxine eine direkte chemische ist, ohne Mithilfe eines vitalen Bestandteiles des Organismus. Ehrlich gelang dieser Nachweis in folgender Weise: ein Eiweißgift, das Ricin, das sich in jeder Beziehung wie ein Bakterientoxin verhält, hat die Eigenschaft, die roten Blutkörperchen zusammenzuklumpen. Ehrlich konnte nun bei Versuchen in vitro zeigen, daß diese für die roten Blutkörperchen giftige Eigenschaft des Ricins aufgehoben wird, wenn er antiricinhaltiges Serum, also das betreffende Antitoxin, zufügte. Und da diese neutralisierende Wirkung des Antiricins in vitro ebenso gelang, wenn Ehrlich Blutkörperchen verwendete, die vorher mit Chlorkali oder anderen die Blutkörperchen abtötenden Salzen vorbehandelt waren, so war der klare Beweis geliefert, daß bei der Wirkung eines Antitoxins durchaus nicht die Mitwirkung einer lebenden Zelle erforderlich sei. Auf Grund dieses Versuches formulierte Ehrlich seinen bekannten Satz, daß die Wirkung des Antitoxins auf das Toxin eine direkte chemische sei und als solche allen Gesetzen in der Chemie folge. Sie beruht darauf, daß das

Antitoxin eine spezifisch bindende Verwandtschaft zu dem Toxin besitzt, dieses an sich kettet und es so verhindert, die lebende Zelle anzugreifen. Diese Bindung erfolgt wie jede chemische Reaktion rascher in der Wärme und in konzentrierten Lösungen, als in der Kälte und in verdünnten Lösungen (Ehrlich, Knorr). Seitdem wurde diese Tatsache durch zahlreiche andere Autoren immer weiter gestützt; auch v. Behring war auf Grund seiner Versuche zu gleichen Resultaten gekommen, sodaß heute die Ansicht von der gegenseitigen Bindung des Toxins und Antitoxins mittelst einer spezifischen Avidität wohl allgemein anerkannt ist. Besonders beweisend für deren Richtigkeit waren die Versuche von Martin und Cherry mit Schlangengift und Antitoxin. Diese Autoren gingen davon aus, daß das Antitoxinmolekül größer sei, als das Toxinmolekül, und daß daher Bakterienfilter, deren enge Poren noch durch Gelatine verstopft sind, eventuell das kleine Toxinmolekül durchlassen, das größere Antitoxinmolekül aber nicht. Der Versuch bestätigte diese Annahme, indem bei der Filtration eines durch Antitoxinzusatz für den Tierkörper genau neutralisierten Schlangengift-Gegengiftgemisches ein Filtrat abließ, das wieder giftig war. Es zeigte sich weiter bei diesen Versuchen, daß diese Trennung des Toxins vom Antitoxin nur innerhalb einer gewissen Zeit möglich war, über diese hinaus aber nicht. Dadurch wurde die Ansicht von Ehrlich, v. Behring, Knorr u. A. als richtig erwiesen, daß die Bindungsfestigkeit mit jeder Zeiteinheit zunimmt. Sie ist anfangs lockerer, noch sprengbar, und wird dann immer fester, wie dies in vivo auch Dönitz bei seinen Heilversuchen zeigen konnte.

Wenn wir die genannten Versuche überblicken, so sehen wir, daß die maßgebenden derselben ausschließlich im Reagenzglas angestellt oder mit solchen Toxinen vorgenommen wurden, die in der menschlichen Pathologie keine oder nur eine sehr untergeordnete Rolle spielen. Es ist daher sowohl gegenüber den Versuchen von Calmette und Wassermann, sowie gegenüber den Experimenten von Martin-Cherry stets der Einwand möglich, daß die Gesetze über die gegenseitige chemische Einwirkung von Toxin und Antitoxin wohl im Reagenzglas nachgewiesen sind, daß sie sich aber in vivo, und besonders für das Diphtherie- und Tetanustoxin anders verhielten.

Wir sind deshalb um diese praktisch wichtige Frage zu klären, derselben von neuem näher getreten. Unsere Absicht war, eine Versuchsanordnung zu finden, die den Beweis zuläßt, daß auch im lebenden Organismus die Wirkung des Antitoxins darauf beruht, daß es das Toxin einfach nur an sich bindet, es aber nicht zerstört. Wenn diese Ansicht richtig ist, dann muß es möglich sein, noch im Tierkörper durch Sprengung dieser Bindung trotz Anwesenheit von Antitoxin die Giftwirkung wiederherzustellen und das Tier krank zu machen. Dies ist uns, wie aus den nachfolgenden Versuchen hervorgeht, in der Tat bei Tetanus gelungen. Um dem diesen Dingen etwas ferner stehenden Leser das Verständnis unserer Versuche klarer zu machen, müssen wir zunächst die Resorptionsbahnen des Tetanustoxins einerseits und des Antitoxins andererseits im lebenden Organismus etwas näher betrachten. Diese Bahnen sind, bei Anwendung richtiger Mengenverhältnisse, für beide Substanzen ganz verschieden. Wir wissen nämlich aus den Versuchen von H. Meyer und Ransom, sowie aus einer im Laboratorium von Roux im Institut Pasteur gemachten Arbeit von Marie und Morax, daß das Tetanustoxin nach seiner Einverleibung in den Organismus von den peripheren Nerven aufgenommen wird und dann im Axenzylinder nach dem Zentralnervensystem aufsteigt. Andererseits wissen wir, daß die Antitoxine keine neurotrophen Substanzen sind, daß sie nicht in der Nervenbahn aufsteigen, sondern ihre Verbreitung ausschließlich auf dem Blut- oder Lymphwege finden. Damit war also die Möglichkeit gegeben, durch Verlegung der Blutbahn i. e. der Resorptionsbahn für das Antitoxin bei gleichzeitigem Offenlassen der Nervenbahn i. e. der Resorptionsbahn für das Toxin, eventuell im lebenden Organismus aus einem unschädlichen Tetanustoxin-Antitoxingemisch wieder das Toxin hervortreten zu lassen. Diesen Zweck erreichten wir mit der Anwendung von Nebennierenpräparaten speziell des Suprareninum hydrochloricum (Höchst) bei Tieren. Das Experiment wurde in der Weise angestellt, daß genau quantitativ ein Tetanustoxin-Antitoxingemisch hergestellt wurde, das für Meerschweinchen gerade unschädlich war; d. h. es enthielt so viel Antitoxin, als gerade dazu nötig war, das Toxin nach einer bestimmten Zeitdauer so zu neutralisieren, daß keine Krankheitssymptome auftraten. Wurde nun

dieses gleiche Gemisch einem ebenso großen Meerschweinchen injiziert, nachdem aber vorher Suprarenin an der Injektionsstelle appliziert und dadurch eine Kontraktion der Kapillaren hervorgerufen worden war, so trat typischer, tödlicher Tetanus auf. Die betreffenden Versuche sind aus den beifolgenden Tabellen zu ersehen. Aus denselben geht auch hervor, daß wir die Injektionen stets an der Hinterpfote machten, weil die hervorgerufene zirkumskripte Anaemie an der zarten Fußhaut des Meerschweinchens besonders schön zu konstatieren war. Sie trat zirka zwei Minuten nach der Suprarenininjektion ein und hielt ungefähr eine halbe Stunde an.

Tabelle 1.

Einstellung der Tetanustoxin-Antitoxinmischung an Meerschweinchen. (Injektionsstelle: rechter Hinterfuß; Toxizität des Tetanustoxin: 0,000001 g + 4 Tagen.)

Reaktionszeit	$\frac{1}{100}$ A.-E. + $\frac{1}{100}$ g Toxin <sup>1)</sup>	$\frac{1}{100}$ A.-E. + $\frac{1}{200}$ g Toxin	$\frac{1}{100}$ A.-E. + $\frac{1}{250}$ g Toxin	$\frac{1}{100}$ A.-E. + $\frac{1}{250}$ g Toxin
15 Minuten	†	†	leicht tet. nach 2 Tagen, stark tet. nach 4 Tagen, † nach 5 Tagen, leicht tet. am 5. Tag	gesund
1. Stunde	†	†	bleibt gesund	gesund
2 Stunden	†	†	gesund	gesund

<sup>1)</sup>  $\frac{1}{100}$  A.-E. wurde auf  $\frac{1}{2}$  ccm, die Toxinlösung auf 1 ccm gebracht, sodaß zusammen stets 1,5 ccm injiziert wurden.

Tabelle 2.

Sprengung der neutralisierten Toxin-Antitoxinmischung im Tierkörper. Meerschweinchen 250 g. — Injektionsstellen und Versuchsanordnung wie vorher.

Reaktionszeit	Neutrales Toxin-Antitoxingemisch	Kontrolle	Suprarenin <sup>1)</sup>
60 Minuten	$\frac{1}{100}$ A.-E. + $\frac{1}{250}$ g Toxin	gesund	tet. 2. Tag. † 6. Tag

<sup>1)</sup> 1 ccm Suprarenin. hydrochloricum 1:4000 5 Minuten vor der Injektion des Toxin-Antitoxingemisches in die rechte Hinterpfote.

Nach dem vorher Gesagten ist also der Ausgang dieses Versuches, den wir öfters, stets mit dem gleichen Resultate, wiederholten, so zu erklären, daß in der Mischung das Tetanustoxin und -antitoxin durch eine gewisse Avidität aneinander gebunden sind. Beim Eintritt in den Tierkörper findet nun das Toxin seine Resorptionsbahn offen, das Antitoxin die seinige infolge des Suprarenalins verschlossen, bzw. verengt. Die Folge ist, daß die Moleküle sich wieder voneinander trennen und daß das Toxin seine offene Bahn, die Nervenbahn, einschlägt. Daraus geht hervor, daß in diesem Falle die Avidität des Zentralnervensystems zum Toxin eine größere ist, als die Avidität des Antitoxins zum Toxin; denn das Toxin reißt sich vom Antitoxin los und folgt der Anziehungskraft hinauf ins Zentralnervensystem, wodurch die Krankheit eintritt.

Wir haben nun aber vorher gesehen, daß nach Ehrlich und den anderen oben zitierten Autoren die Bindung zwischen Antitoxin und Toxin mit jeder Zeiteinheit fester wird. Demzufolge muß ein Punkt kommen, wo die Festigkeit zwischen beiden Molekülen, d. h. die Avidität zwischen Toxin und Antitoxin so stark geworden ist, daß sie die Avidität des Zentralnervensystems übertrifft. Wenn dieser Zeitpunkt eingetreten ist, dann darf trotz Suprarenin die Sprengung nicht mehr erfolgen, dann muß das Toxin- und Antitoxinmolekül trotz der Verlegung der Resorptionsbahn zusammenbleiben, weil jetzt eben die Avidität des Toxins zum Antitoxin größer ist, als diejenige zum Zentralnervensystem. Dieses wird eintreten, wenn wir die gegenseitige Einwirkung von Toxin und Antitoxin vor der Injektion längere Zeit statthaben lassen. Den Ausgang eines solchen Versuches zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3.

Festigkeit der Bindung Toxin-Antitoxin nach zweistündiger Reaktionszeit. Sprengung unmöglich. Versuchsanordnung wie vorher.

Reaktionszeit vor der Injektion	neutrales Toxin-Antitoxingemisch	Kontrolle	Suprarenin-Tier
2 Stunden	$\frac{1}{100}$ A.-E. + $\frac{1}{250}$ g Toxin	gesund	gesund

Wir ersehen also, daß nach zweistündiger Einwirkung von Antitoxin auf Toxin trotz Verlegung der Blutbahn eine Sprengung nicht mehr eintritt: die Verbindung ist zu fest geworden.

Auch die weitere Forderung für die chemische Bindung zwischen Toxin und Antitoxin, daß die Festigkeit der Bindung in konzentrierten Lösungen rascher erfolgt, ließ sich deutlich erfüllen (Tabelle 4).

Tabelle 4.  
Versuchsanordnung wie vorher.

Reaktionszeit	Toxin-Antitoxingemisch	Kontrolle	Suprarenin
15 Minuten	$\frac{1}{100}$ A.-E. + $\frac{1}{220}$ g Toxin $\frac{1}{10}$ " + $\frac{1}{220}$ g "	Tet. 4. Tag + 6. Tag gesund gesund	Tet. 2. Tag + 3. Tag gesund gesund

Es ergibt sich also, daß bei Ueberschuß von Antitoxin bereits nach kürzerer Zeit die Bindung des Toxins erfolgt. Gleichzeitig wird aber bei Antitoxinüberschuß die Bindung in kürzerer Zeit eine sehr feste, sodaß schon nach 15 Minuten trotz Suprareninwirkung eine Sprengung der Verbindung im Tierkörper nicht mehr möglich ist.

Aus den mitgeteilten Versuchen erhellt, daß auch im lebenden Organismus noch eine Sprengung der Verbindung Toxin-Antitoxin erfolgen kann, und wir müssen deshalb annehmen, daß auch in vivo die Antitoxinwirkung ausschließlich eine Folge der gegenseitigen Bindung des Antitoxin- und Toxinmoleküls nach chemischen Gesetzen ist. Wir haben daher keinen Anlaß, noch ein drittes unbekanntes vitales Agens zur Erklärung der Antitoxinwirkung heranzuziehen. Das Antitoxin wirkt dadurch, daß es das Gift an sich bindet, festhält, und es so verhindert, an lebende Zellen zu gehen und diese krank zu machen.