

Die
biologischen Eiweißreaktionen
und
ihre Anwendung
in der
Medizin und Naturwissenschaft.

Von
Hofrat Prof. Rich. Paltauf.

Mit 2 Abbildungen im Texte.

Vortrag, gehalten am 2. März 1910.

Verehrte Damen und Herren!

Als ich vergangenes Jahr vom Präsidium Ihres Vereines aufgefordert wurde, einen Vortrag in Ihrem Kreise zu halten, blätterte ich die Programme der vergangenen Jahre durch und fand, daß seit dem Vortrage M. v. Grubers über neue Studien auf dem Gebiete der erworbenen Immunität kein Thema mehr aus der Immunitätslehre Gegenstand eines Vortrages geworden ist, obwohl einige der auf diesem Gebiete erworbenen Kenntnisse ins praktische Leben bereits gedungen sind und Einbürgerung gefunden haben. Ich beschloß daraufhin, Ihnen einiges über die sogenannten biologischen Eiweißreaktionen mitzuteilen. Ich werde mich hiebei von theoretischen Erörterungen so viel als möglich ferne halten und vor allem in beschreibender Weise Tatsachen mitteilen.

Den Ausgang zu diesen Kenntnissen bildeten die Studien über die Immunität, die, seitdem man bestimmte Krankheitserreger kennen gelernt hat und seit Metschnikoff im Jahre 1883 die erste Theorie für ihre Ursachen im Kampfe des Organismus, resp. seiner Zellen mit den Krankheitserregern gefunden zu haben glaubte, dauernd gepflegt, nunmehr zu einem ungeahnt ausge dehnten Gebiete der biologischen Wissenschaften geworden ist. Die Kenntnis der Antitoxine war das erste

praktisch verwertbare Ergebnis und gab gleichzeitig die Grundlage für die so erfolgreiche Theorie P. Ehrlichs über die Entstehung der Antikörper bei der erworbenen Immunität (sog. „Seitenkettentheorie“); mit diesem Thema beschäftigte sich damals Max v. Gruber hauptsächlich.

Im Jahre 1895 machte v. Gruber auf eine Eigenschaft des Blutserums bei künstlich immunisierten Tieren und bei Menschen, die gewisse Krankheiten überstanden hatten, wie z. B. den Abdominaltyphus, aufmerksam; dieselbe besteht darin, daß ein solches Serum in viel höherem Maße als ein normales, d. h. in viel stärkerer Verdünnung imstande ist, die Bakterien, welche zur Immunisierung gedient oder die Krankheit erzeugt hatten, wie also im gewählten Beispiele die Typhusbazillen, aus einer homogenen, in Kochsalzlösung hergestellten Aufschwemmung in Flocken geballt auszuscheiden, so daß statt der homogen trüben Aufschwemmung eine von größeren oder kleineren Flocken durchsetzte klare Flüssigkeit resultiert; schließlich sedimentieren die Bakterien, während sonst die Bakterienaufschwemmung durch Tage homogen bleibt. Gruber und Durham bezogen diese Erscheinung auf Substanzen, welche die Bakterien klebrig machen, wodurch sie zusammengeballt werden, und nannten dieselben Agglutinine, das Phänomen Agglutination. (Demonstration.)

Dieser Name ist geblieben, obwohl es sich bald herausstellte, daß die Erscheinung mit einer Verklebung der Bakterien nichts zu tun habe; auch unbewegliche,

ferner abgetötete Bakterien zeigen die Flockenbildung und man erkannte, daß der Vorgang mehr einer Ausfällung, einer Koagulation von Substanzen des Blutserums, des Agglutinins, als solcher der Bakterien entspreche.

Die Agglutinine, welche bei verschiedenen Infektionen entstehen und künstlich durch Immunisierung mit Bakterien, auch abgetöteten, erzeugt werden können, sind streng spezifisch; in gewissen, oft sehr beträchtlichen Verdünnungen, z. B. 1:10.000, 1:20.000, ja 1:50.000 agglutiniert ein derartiges Serum nur die zugehörigen Bakterien, z. B. Typhusbazillen oder Cholera-vibrionen, so daß es möglich ist, mittels der Agglutination gewisse, sonst sehr ähnliche und nur durch zeitraubende Untersuchungen zu unterscheidende Bakterien einer Gruppe rasch zu differenzieren und zu diagnostizieren; speziell für die Diagnose von Typhusbazillen und Cholera-vibrionen gegenüber anderen ihnen höchst ähnlichen ist das Verfahren sehr wertvoll (Serodiagnostik der Bakterien).

Widal hat dann gefunden, daß beim Typhus diese Eigenschaft des Krankenserums schon während der Erkrankung auftritt und so diese Reaktion des Krankenserums zur Diagnose der Krankheit „Typhus“ verwertbar sei. Dieselbe wird als „Gruber-Widalsche“ Reaktion heute allgemein geübt. Auch bei Dysenterie, Maltafieber, bei Cholera-Rekonvaleszenten, bei der Pest zirka 7—9 Tage nach Beginn der Erkrankung finden sich die betreffenden Agglutinine im Blutserum von Kranken und können diagnostisch

verwendet werden (Serodiagnostik der Krankheit).

Prof. R. Kraus am hiesigen serotherapeutischen Institute hat bei den Studien über das Wesen der Agglutination im Jahre 1897 die Beobachtung gemacht, daß die Kulturflüssigkeiten von Typhusbazillen, Cholera-vibrionen, in denen diese Organismen durch Wochen gewachsen waren, allein, d. h. nach Filtration der Bakterien mit demselben Immunserum, welches Agglutination erzeugt, Niederschläge, Fällungsprodukte spezifischer Art hervorruft, so zwar, daß immer nur in der Typhusbazillenbouillon durch Typhus-Immunserum, in der Cholera-vibrionenbouillon durch Cholera-Immunserum die Niederschläge, Präzipitate entstehen (Demonstr.).

Man benennt solche Substanzen, welche im Tierkörper zur Entstehung bestimmter, nur mit ihnen reagierender „Antikörper“ führen, als „Antigene“. Außer einer Gruppe von Giften, die deshalb auch den besonderen Namen „Toxine“ führen, von denen Ihnen vor Jahren v. Gruber gesprochen, sind also auch die Bakterienkörper und gewisse gelöste Bakterien-substanzen Antigene, die im Tierkörper die Entwicklung von Antitoxinen, von Agglutininen und von Präzipitinen als Antikörper veranlassen.

Tschistovich hat dann gezeigt, daß auch bei subkutaner Injektion des Blutserums verschiedener Tiere (Kaninchen, Pferd, Aal), im Serum des behandelten Tieres die Eigenschaft erscheint, mit dem betreffenden Blutserum in starker Verdünnung wieder in ganz spezifischer Weise

Niederschläge hervorzurufen; das wurde später vielfach und für verschiedene tierische und auch pflanzliche Eiweißarten bestätigt, so daß man sagen konnte, jedes native Eiweiß ist ein Antigen, und zwar ein Präzipitinogen, das im Tierkörper zum Entstehen eines Präzipitins führt. So erzeugen nicht nur Blut und Blutserum, sondern Eiereiweiß, die Eiweiße der Pflanzensamen wie der Getreidekörner, der Hülsenfrüchte, Hanf etc., spezifische Präzipitine, insofern spezifisch, als sie bereits in geringer Menge in hohen Verdünnungen nur mit den zugehörigen Eiweißlösungen einen Niederschlag hervorrufen, mit anderen aber nicht. Sie reagieren sogar mit chemisch nicht mehr nachweisbaren Eiweißmengen, denn nicht nur in Verdünnungen von 1 : 10.000 z. B. des Hühner-eiweißes oder des Blutserums, der Grenze der Biuretreaktion (eine allgemeine Reaktion auf Eiweiß) tritt die Präzipitation ein, sondern prompt und zuverlässig noch bei Verdünnung von 1 : 50.000, ja 1 : 100.000; so reagiert ein Präzipitin auf Rinderserum nur mit diesem in hohen Verdünnungen, nicht mit Pferde- oder Menschenserum; ein Präzipitin auf Edestin (Eiweiß des Hanfes) nur mit diesem und nicht mit Eiweißlösungen aus den Hülsenfrüchten oder Kleber oder Kartoffeleiweiß. (Demonstration verschiedener tierischer und pflanzlicher Präzipitine, die wie gewöhnlich vom Kaninchen auf Injektion des betreffenden Eiweißes gewonnen waren.)

Ich sagte, jedes native Eiweiß, somit auch das der Milch (Frauenmilch, Milch verschiedener Tiere, Kuh, Ziege) erzeugen ein Präzipitin, welches wieder nur

jeweils in Frauenmilch oder in der betreffenden Tiermilch einen Niederschlag bildet, so daß man die verschiedenen Milcharten, wie die Bluteiweiße verschiedener Tiere biologisch voneinander unterscheiden lernte — Differenzierungen, die sonst nur mittels genauer chemischer Analysen bis zu einem beschränkten Grade oder gar nicht möglich waren. Analog wie Milch konnte man mittels dieser Reaktion die Eiweißstoffe verschiedener Vogeleier unterscheiden, wobei Uhlenhut feststellte, daß nur bei den Eiern nahe verwandter Vögel dies nicht gelänge und daß die Reaktion außerordentlich fein sei, indem noch Verdünnungen bis zu 1 : 100.000 den spezifischen Nachweis erlauben, ja daß, wie bereits erwähnt, gerade für den spezifischen Nachweis die hohen Verdünnungen, in denen die Reaktion auftritt, maßgebend sind.

Die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Tieren kommen bei dieser Reaktion auch zum Ausdruck, nicht nur in den großen Tierklassen, wie Säugetiere, Vögel, Fische, sondern auch bei nahe verwandten Tieren; eine der ersten festgestellten Beziehungen ist die zwischen Mensch und Affe; denn es gibt ein Menschenblutantisera (Menschenpräzipitin) auch noch eine deutliche, wenn auch quantitativ geringere Reaktion mit Affenblutserum. Nuttall hat mit 30 verschiedenen Antiseris 16.000 Reaktionen mit dem Blute verschiedener Tiere aller Klassen angestellt und analoge verwandtschaftliche Beziehungen festgestellt, wie sie uns in der Phylogenie bekannt sind. Deutlich tritt die Verwandtschaft hervor zwischen Pferd, Esel und Tapir, Fuchs und Hund, Ziege,

Schaf und Rind, Kaninchen und Hase, Taube und Huhn, teilweise so deutlich, daß eine Differenzierung bei sehr nahverwandten Tieren zunächst gar nicht möglich ist. Hervorgehoben sei aus Nuttalls Untersuchungen an 46 Affenblutsorten, daß ein Menschenblutpräzipitin die größte Reaktion mit dem Blutserum der Anthropoiden gibt, geringer fällt sie mit dem Blute der niederen Affen, wie Kynocephalus, Rhesus aus, aber immer stärker noch bei den Affen der alten Welt als bei denen der neuen.

Ein Antimenschenserum, das in einer Verdünnung von 1:100 Menschenserum präzipitierte, gab z. B. die deutlichsten Reaktionen bei Verdünnung auf 1:40 der Reihe nach mit dem Serum vom Schimpanse, Gorilla, Orang und mit einer Kynocephalusart, dann mit Kynocephalus Sphinx und Ateles, viel weniger mit dem Blute einzelner Karnivoren und Huftiere, gar keine Reaktion mit dem von Insektenfressern und Nagetieren.

Ein Orangantiserum reagierte am meisten mit dem Blute des Orang, weniger (75%) mit dem des Menschen, noch weniger mit dem vom Macacus, gar nicht mit dem Blute der Lemuren, wie auch das Menschenpräzipitin mit demselben nicht reagierte.

Die Verwandtschaftsreaktion zeigt sich somit in der für die Hervorrufung der Präzipitation notwendigen größeren Serummenge und außerdem auch in der Menge des Niederschlages; bei sehr nahe verwandten Tieren, wo keine Differenzierung mehr möglich war, ergab sich aber weiter, daß bis zu einem gewissen Grade durch kreuzweise Immunisierung mit dem Blute der betreffenden Tiere Unterschiede festzustellen sind; so ergaben sich z. B. bei der Immunisierung eines Kaninchens mit Hasen-

blut und eines Hasen mit Kaninchenblut deutlich verschiedene Präzipitine; dasselbe war der Fall zwischen Ratte und Maus und bei den zoologisch allerdings nicht so verwandten Tauben und Hühnern. Nicht möglich war die Erzielung von Präzipitinen zwischen Pferd und Esel, so daß das Ausbleiben der Präzipitinbildung als ein feines Reagens für den Nachweis sehr naher Blutverwandtschaft unter Tieren bezeichnet werden kann, als deren Ausdruck wir sonst die Möglichkeit der Kreuzung, die Bastardbildung, kennen.

Bei den Untersuchungen der verschiedenen Organ-eiweiße zeigte sich fast konstant, daß immer gleichzeitig auch das Blutserum die Reaktion gab, daß umgekehrt auch das Blutantiserum mit den Organextrakten reagierte, so daß man von einem spezifischen Arteiweiß sprechen konnte; nicht durchführbar erwies sich eine einwandfreie biologische Differenzierung der chemisch isolierbaren Eiweißkörper, z. B. des Blutserums wie Albumin, Globulin (s. a. Pseudoglobulin). Für gewisse Organeiweiße besteht aber eine spezifische Differenzierung, z. B. für Eiweiß des Eiklars und des Dotters, ferner wenn in einem Sekret verschiedene Eiweißkörper genuin vorkommen, die getrennt nachzuweisen sind und auch die Bildung verschiedener Präzipitine veranlassen; so erzeugt ein Blutantiserum in der Milch derselben Tierart einen Niederschlag, nach dessen Abfiltrierung das mit der Milch erzeugte Antiserum, das sogenannte Laktoserum neuerdings einen spezifischen Niederschlag mit dem Kasein (Käsestoff) erzeugt, während der erste Nieder-

schlag mit dem im Blutserum identischen Eiweißkörper des Serums entstanden ist; umgekehrt enthält ein Laktoserum außer dem Präzipitin für Milch auch ein solches für das Bluteiweiß. Im angeführten Versuche (Milch mit dem Blutantiserum der betreffenden Tierart) wurde also zuerst das Eiweiß der Milch, welches mit dem im Blute wesensgleich ist, abgesättigt, respektive gefällt und dann erst durch das Laktoserum das der Milch eigentümliche Eiweiß, das Kasein, zur Fällung gebracht.

Diese Absättigungsmethode bewährte sich bei der Trennung von Gruppenreaktionen, wie z. B. der des Menschenpräzipitins auf Menschen- und Affenserum; durch Ausfällen des für Mensch und Affe gemeinsamen Anteiles im Menschenantiserum mittels Zusatz von Affenserum erübrigt ein Präzipitin, welches nur mehr mit Menschenserum, nicht mehr mit Affenserum Niederschläge erzeugt, also ganz spezifisch ist.

Auf diese Weise gewinnen wir auch eine Vorstellung für das Vorhandensein von Eiweißanteilen, welche zunächst einer ganz großen Tierklasse und dann immer kleineren Gruppen derselben, schließlich einer Art eigentümlich sind; jedes Säugetierpräzipitin enthält einen Anteil, der allen Säugetieren gemeinsam ist, daher reagiert es nicht auf Vogelserum, dagegen stärker auf die nähere Gruppe; Affenserum z. B. am stärksten wieder auf die nächsten Anverwandten und endlich die Art selbst. Man spricht in diesem Sinne auch von Partialpräzipitinen und es ist erklärlich, daß, je höher

die Tierart, je spezifischer dieselbe sich abhebt, dies auch im Präzipitin zum Ausdruck kommt.

Während häufig sich eine gewisse Identität des Eiweißes der verschiedenen Organe und des Blutes bei einem Organismus ergibt, ist als auffallend und biologisch bedeutsam hervorzuheben, daß das Eiweiß der Augenlinse gar keine Artspezifität zeigt, indem ein mit dem Extrakt aus Linsen vom Rind im Kaninchen erzeugtes Linsenantiserum nicht nur mit dem Extrakt der Rinderlinse, sondern auch mit dem Linsenextrakte des Menschen, Pferdes, Hammels, Schweines, Rehes und anderer Säugetiere, ja des Kaninchens selbst, welches das Serum liefert, unter Präzipitinbildung reagiert, sogar auch mit dem Linsenextrakt von Vögeln (Huhn, Ente, Eule, Sperling), ja von Fröschen und Kreuzottern, so daß man sagen muß, die Linsen der Säugetiere, Vögel und Amphibien enthalten gleichartige Eiweißsubstanzen; erst die Fische haben in der Augenlinse ein Eiweiß, welches nur Spuren von dem in den höheren Tieren enthält. Diese Tatsache der sozusagen Einheit des Linseneiweißes in einem großen Teile des Tierreiches ist um so auffallender, als morphologisch nicht nur beträchtliche, sondern für eine Reihe von Säugetieren sogar spezifisch-morphologische Eigenheiten erwiesen sind, an denen man mikroskopisch die Herkunft der betreffenden Linsen erkennen kann.

Eine Sonderstellung nehmen auch die Geschlechtszellen ein; das ist jedoch nur dort zu erweisen, wo man dieselben rein, frei von Sekreten, von Gewebe, Blut gewinnen kann, wie das jüngst Dunbar am Rogen, Laich

von verschiedenen Süßwasser- und Seefischen erwiesen hat: bei Brassern, Aland, Karpfen, Hering und Forelle; das mit Rogen hergestellte Serum reagierte nur auf Extrakt aus Rogen, das vom Sperma nur auf dieses; sie verhielten sich zueinander wie artfremdes Eiweiß, ebenso wie das Fleisch; dabei reagierte aber wieder das Eiweiß der Rogen verschiedener Fische als serobiologisch verwandt, ebenso das Fleisch gewisser Gruppen, z. B. der Teleostier. Das Fleischeiweiß z. B. der Forelle reagiert verwandt mit dem Fleischeiweiß des Flußaales, während das Eiereiweiß der Forelle zum Fleischeiweiß der Forelle sich wie ein artfremdes verhält, so daß man sagen könnte, es steht das Fleischeiweiß des Aales dem der Forelle näher als ihr eigenes Eiereiweiß.

Ob sich diese Spezifität des Linseneiweißes und der Geschlechtszellen einheitlich erklären lassen oder ob verschiedene Ursachen in der Art und im Bau des Eiweißes dieser Erscheinung zugrunde liegen, entzieht sich noch unserer Kenntnis; man könnte sich aber vorstellen, daß die Linse als ein in der langen Reihe der auf dem Lande, resp. in der Luft sich aufhaltenden Tiere, den Reptilien—Vögeln—Säugetieren, funktionell sich gleich gebliebenes Organ, welches sich auch in der embryonalen Entwicklung frühzeitig ausbildet und außerdem durch seine Gefäßlosigkeit vom allgemeinen Stoffwechsel wenig beeinflusst wird, sich eine Spezifität bewahrt hat, und daß in ähnlicher Weise auch die Geschlechtszellen, männliche und weibliche, sich als Keimplasma eine Spezifität gegenüber dem Eiweiße des Soma erhalten haben. Anzufügen wäre,

daß auch bei den Pflanzen dieselbe Spezifität des Eiweißes der Geschlechtszellen gegenüber dem anderer Teile der Pflanze angegeben wird; hier konnten nur Pollen isoliert gewonnen werden, und da zeigte sich auch bei einer anderen noch zu besprechenden biologischen Methode diese Sonderstellung des Eiweißes der Pollenzellen gegenüber dem der Blätter, der Frucht und der Stengel, andererseits aber wieder verwandtschaftliche Beziehungen zwischen Pollen von Roggen, Weizen, Gerste, Hafer, Mais, Reis, Trespens; alle Pollen von Gramineen, die bei uns Heufieber verursachen, erwiesen sich biologisch verwandt, völlig verschieden von den untereinander auch serobiologisch völlig getrennten Pollen der Solidago- (Goldrute) und Artemisia- (Wermut-) Arten, die in Amerika Ursache des sogenannten Heufiebers sind.

Bisher war immer die Rede von nativ vorkommendem Eiweiß; wenn das Eiweiß durch Kochen oder durch andere Prozeduren verändert wird, so reagiert es nicht mehr auf das mit nativem Eiweiß gewonnene Präzipitin; ein Blutantiserum, welches, wie erwähnt, auf die Extrakte verschiedener Organe desselben Tieres wirkt, auch auf Fleischsaft, wirkt nicht auf das gekochte Bluteiweiß, auch nicht auf den gekochten Preßsaft des Fleisches. Obermayer und Pick haben nun gefunden, daß ein durch gewisse Eingriffe verändertes Eiweiß jedoch noch immer die Eigenschaft behält, die Präzipitinbildung anzuregen, daß aber dann das Präzipitin zunächst nur auf dieses veränderte Eiweiß reagiert. Injiziert man einem Kaninchen ein durch Verdünnen oder durch Zusatz von

Harnstoff kochbares Rinderserum, so erhält man ein Präzipitin, welches in diesem gekochten Serum Niederschläge erzeugt, aber eben nur wieder vom Rinde, nicht in gekochtem Pferdeserum; man kann somit außer den Art- und gewissen Organeiweiß-Spezifitäten noch solche des Zustandes, in welchem sich das Eiweiß befindet, unterscheiden: außer der originären noch eine konstitutive Spezifität. Ein solches z. B. durch gekochtes Serumeiweiß erzeugtes Präzipitin erhält, wenn es stark wirksam ist, auch die Fähigkeit, das originäre, native, genuine Bluteiweiß zu präzipitieren, sein Wirkungsumfang ist größer geworden als der des mit nativem Eiweiß erzeugten Präzipitins. Gleichzeitig haben wir dadurch erfahren, das jener Teil des Eiweißes, welchem die spezifische Fähigkeit der Präzipitinbildung zukommt recht resistent ist, widerstandsfähig gegen eine Reihe von Eingriffen, was für die wissenschaftliche Seite der Konstitution der Eiweißkörper sehr interessant ist.

Noch in anderer Richtung hat sich die Präzipitinreaktion als Methodik wissenschaftlich wertvoll erwiesen; dieselben Autoren, Obermayer und Pick fanden, daß außer jenen Zustandsänderungen des Eiweißes, die eine gewisse konstitutive Spezifität bei Erhaltung der Artspezifität bedingen, auch durch proteolytische sowie oxydative Spaltungen, selbst bei intensiven Einwirkungen die Artspezifität nicht verloren geht, sondern nahezu bis zur völligen Aufspaltung des Moleküls erhalten bleibt; Rinderserum-Eiweiß oder Eiereiweiß durch ein wirksames Trypsinpräparat (Verdauungsferment der

Bauchspeicheldrüse) bis zum Schwinden der Biuretreaktion (allgemeine Eiweißreaktion) gespalten, geben noch spezifische Präzipitine, die allerdings nur beschränkt auf diese tryptischen Spaltungsprodukte einwirken, aber ihre Spezifität ist erhalten. Das Immuserum des mit Eiweiß-Spaltungsprodukten des Pferdeserums behandelten Kaninchens wirkt nur auf diese, nicht aber auf die des Rinderserums.

Der Befund ist um so interessanter, als man die Biuretreaktion gebende Gruppe bei ihrem steten Vorkommen in den Eiweißkörpern als für diese charakteristisch ansah, und doch hat sie nichts mit der Artspezifität zu tun. Dieselben Forscher fanden aber, daß, wenn man Jod oder die Nitrogruppe ins Eiweißmolekül einführt oder dasselbe diazotiert, die Artspezifität verloren geht. Ein Jod-Rindereiweiß gibt ein Serum, welches nicht nur in den Lösungen dieses, sondern der Jod-Eiweißkörper der Säugetiere, der Vögel, ja sogar jodierter pflanzlicher Eiweißkörper — Jod-Edestin (Hanf), Jod-Kleber — Niederschläge erzeugt; dasselbe ist mit dem Immuserum eines Xanthoproteins (mit Salpetersäure verändertes Eiweiß) oder diazotierten Eiweißes der Fall: die Artspezifität ist mit einem Schlage verloren, respektive man hat ein künstliches spezifisches Eiweiß vor sich, das sich auch dem Tiere gegenüber, von dem es stammt, als körperfremd verhält; denn mit einem aus Kaninchen-eiweiß gewonnenen Xanthoprotein kann man beim Kaninchen ein Präzipitin erhalten, das nicht nur dieses, sondern die Xanthoproteine aus dem Eiweiß verschiedener

Tiere präzipitiert und nur diese, nicht auch ein jodiertes oder diazotiertes. Es verhält sich somit dieses Eiweiß wie etwa das der Linse — als solches spezifisch ohne Rücksicht auf die natürliche Abstammung.

Überlegungen der chemischen Verhältnisse und Beziehungen brachten die genannten Autoren zur Überzeugung, daß die genannten Gruppen im aromatischen Kern substituiert sind, daß somit die Artspezifität im Eiweißmolekül von Gruppen abhängt, die mit dem aromatischen Kern zusammenhängen, ja daß der aromatische Komplex etwa den Mittelpunkt ergibt für die jeweilige charakteristische Gruppe der anderen das Eiweiß zusammensetzenden Atomgruppen.

Es darf bei der Fülle dieser Tatsachen uns nicht wundernehmen, daß diese Präzipitinreaktion mannigfache praktische Anwendung erfahren hat. Die Artspezifität drängte sofort zur Anwendung der Reaktion dort, wo es von Bedeutung ist, ein spezifisches Eiweiß nachzuweisen; im Zusammenhang damit, daß die Reaktion zunächst als die von Blut und Blutserum bekannt geworden ist, wurde sie von Uhlenhut dafür ausgeprüft, menschliches Blut von tierischem zu differenzieren; dadurch, daß, wie ich bereits anführte, die Reaktion in außerordentlichen Verdünnungen möglich ist, hat sie sich auch für gerichtliche Zwecke für den Nachweis kleinster Mengen, wie sie als Blutspuren an Kleidern und Gegenständen vorkommen, ausgezeichnet bewährt; sie bildet die biologische Methode Uhlenhuts für den forensischen Blutnachweis.

Man bedarf hierzu eines stark wirksamen Anti-Menschen-serums (Menschenpräzipitin); der verdächtige Fleck, von dem man durch chemische Reaktion den Nachweis erbracht hat, daß es sich um Blut handelt, wird in einer geringen Menge Kochsalzlösung, so daß eine Lösung von 1 : 1000 etwa resultiert, ausgewaschen, die Flüssigkeit klar filtriert und 1 cm³ derselben mit 0·1 des Präzipitins versetzt. Tritt ein Niederschlag auf, so handelt es sich im untersuchten Blutfleck, wenn die Möglichkeit von Affenblutspuren ausgeschlossen ist, was in unseren Verhältnissen gemeinhin der Fall ist, um Blut von Menschen. Es ist auch möglich, die eventuellen Angaben des Inkulpaten über die Abstammung der Blutflecke zu kontrollieren; Uhlenhuts Kasuistik gibt darüber zahlreiche und interessante Beispiele. Diese Methode des Blutnachweises für gerichtliche Zwecke ist in Deutschland und Österreich eingeführt.

Am hiesigen serotherapeutischen Institute, welches für Österreich die Herstellung des Präzipitins zu besorgen hat, wurde die Methode von v. Eisler in der Weise modifiziert, daß 0·1 cm³ des Präzipitins auf einem Blättchen einer schwarzen Papiersorte angetrocknet werden; diese Papierchen sind völlig trocken (Trockenkasten) sehr gut haltbar. Zur Reaktion wird das Papierchen mit dem angetrockneten Tropfen in die zu untersuchende Blutlösung gegeben, der Tropfen löst sich rasch und der Untergrund des schwarzen Papiere fördert die Deutlichkeit der Trübung. Die Kenntnis dieses Nachweises ist bereits so populär geworden, daß die Verbrecher sich

bereits weniger häufig auf Tierblut ausreden sollen und Nasenbluten als die Quelle der Flecke angeben.

Ebenso ist es möglich, die Abstammung von Knochenstücken, wenn sie so beschaffen sind, daß eine anatomische Bestimmung nicht möglich ist, mittels der Präzipitine festzustellen; entsprechend der Widerstandsfähigkeit des präzipitogenen Anteils im Eiweißmolekül gelingt es bei jahrelang getrockneten, nicht nur normalen, sondern auch pathologischen Gewebstücken und Organen, z. B. einer brandigen, mummifizierten Haut, Zehe (z. B. in Sammlungen jahrelang konserviert), noch den Nachweis der menschlichen Zugehörigkeit zu liefern. Nicht gelungen ist dies bei Mumien, nicht nur ägyptischen der älteren Zeit, sondern auch der jüngeren Periode.

Aus dem engeren Gebiete der Medizin könnte ich noch anführen, daß das Eiweiß, welches bei Nierenkrankheiten im Harn ausgeschieden wird, sich immer als menschliches, nicht als Nahrungseiweiß erwies; nur bei reichlichem Genuß von Hühnereiweiß wurde ein spurenweises Übertreten desselben nachgewiesen. Im Mageninhalt fand man bei Geschwürsprozessen menschliches Eiweiß, das mit dem Sekret derselben ausgeschieden wird, so daß man diesen Nachweis diagnostisch verwerten kann.

Ein großes Gebiet für die praktische Anwendung bietet ferner die Kontrolle und die Untersuchung von Nahrungsmitteln, von Fleisch und Würsten, speziell z. B. der Nachweis von Pferdefleisch im Hackfleisch und in Würsten, ob solches inkorrekt Weise zugesetzt

sei, bei geräuchertem Fleische u. dgl. In Deutschland ist für die Untersuchung von Fleischgemischen die biologische Methode, da die chemischen Methoden in der Regel völlig im Stiche lassen, direkt von amtswegen vorgeschrieben; selbst in gebratenen und gekochten Würsten läßt sich nicht selten, da häufig nicht volle Siedehitze im Innern erreicht wird, in den wässerigen Extrakten mit einem Pferdefleisch-Präzipitin der Nachweis erbringen (Demonstration).

Ähnlich läßt sich von Fettgewebe, nämlich von Speck, auch in Gemengen von Rindstalg und Pferdefett die Abstammung nachweisen, da man nach Extraktion mit Chloroform und Kochsalz noch ein eiweißhaltiges Extrakt gewinnen kann.

Eine geringe Menge von Eiweiß, welche hinreicht, im Thierkörper ein Präzipitin zu gewinnen, machte es möglich, für Bienenhonig ein Präzipitin darzustellen, das in Lösungen des Bienenhonigs einen Niederschlag erzeugt, der in den Verfälschungen mittels Sirup u. dgl. fehlt.

Auch bei medizinischen Nährpräparaten hat man mit Hilfe dieser Methode konstatieren können, was für ein Eiweiß, respektive ob das vom Erzeuger angegebene darin enthalten ist; so wurde in dem mit so viel Reklame empfohlenen „reinen Fleischsaft“ „Puro“, von dem ein paar Löffel voll $\frac{1}{4}$ kg Rindfleisch entsprechen sollten, von v. Gruber, Uhlenhut nachgewiesen, daß er überhaupt kein Rindereiweiß enthält, sondern Eiereiweiß, welches man gewiß als solches viel billiger erhält. Im

„Hämatogen“ fand sich nur Rinder-, respektive Kalbsblut, kein Pferdeblut.

Es gibt nun noch eine Methode, die uns erlaubt, ein bestimmtes Eiweiß in minimalen Mengen erkennen zu lassen, die mit der Präzipitinbildung zusammenhängt, für deren Erklärung ich aber von einer anderen Eigenschaft des Blutserums ausgehen muß.

Normales Blutserum von Mensch und Tier hat oft die Eigenschaft, fremde Blutkörperchen, d. h. die eines anderen Tieres aufzulösen; so löst das Blutserum des Menschen die Blutkörperchen des Kaninchens, Hunde- und Katzenserum lösen die Blutkörperchen verschiedener Tiere. Diese Eigenschaft des normalen Blutserums wird gesteigert, respektive willkürlich hervorgerufen, wenn man einem Tiere die Blutkörperchen eines anderen Tieres unter die Haut injiziert. Injiziert man z. B. einem Kaninchen die Blutkörperchen eines Lammes, so gewinnt das Serum des Kaninchens die Eigenschaft, Lamms-Blutkörperchen aufzulösen und eben nur diese, nicht auch die eines anderen Tieres (wenn diese Eigenschaft nicht bereits de norma vorhanden war). Das Serum enthält also ein spezifisches, sehr wirksames Hämolysin.

Durch Ehrlich hat man kennen gelernt, daß dieses Hämolysin zusammengesetzt ist aus einem Anteil, der Erwärmen auf ca. 56° gewöhnlich verträgt, und einem zweiten, der durch diese Temperatur zerstört wird; dabei hat der erstere, thermostabile Bestandteil die Eigenschaft, die Blutkörperchen so zu verändern, daß der andere, thermolabile dieselben auflöst.

Der Grundversuch hiefür ist folgender: Das erwärmte Hammelblutkörperchen — Hämolysin löst die Hammelblutkörperchen nicht, dabei ist es aber nicht völlig zerstört; denn auf Zusatz einer geringen Menge eines frischen Serums, welches die Lammbloodkörperchen nicht aufzulösen vermag, tritt Lyse (Auflösung) ein; das erwärmte Serum wird daher als inaktiviert bezeichnet. Läßt man dies mit Lammsblutkörperchen stehen, entfernt man durch Zentrifugieren das Serum, wäscht die Blutkörperchen noch mit isotonischer Kochsalzlösung und setzt nach Entfernen dieser neuerdings isotonische Kochsalzlösung zu und dann das frische Serum, so tritt auch Lyse ein; das frische Serum enthält den durch Erwärmen zerstörbaren thermolabilen Anteil; dieser komplettiert das inaktive Hämolysin und wird daher auch Komplement genannt. Das inaktive, inkomplette Hämolysin, der thermostabile Anteil des erwärmten Serums verbindet sich mit den roten Blutkörperchen und macht sie für die Lösung durch das Komplement empfindlich (sensibilisiert). Ob es sich hierbei um eine chemische Verbindung oder um eine Art Beizwirkung handelt, ist nicht entschieden. Ehrlich hat in Anlehnung an chemische Vorstellungen den thermostabilen Anteil im inactiven Serum als Ambozeptor bezeichnet, als einen Körper, der sich einerseits mit den roten Blutkörperchen verbindet, andererseits mit dem Komplemente (ambozeptor — Beiderseitsbinder). Die Kombination: rote Blutkörperchen + inactives hämolytisches Serum (Ambozeptor) wird auch als hämolytisches System bezeichnet oder in der Vorstellung

von einer Art Beizwirkung spricht man auch von „sensibilisierten“ Blutkörperchen.

In diesen auflösenden Substanzen haben wir insofern eine gewisse Analogie zu den früher besprochenen fällenden, den Präzipitinen, als sie wie fermentartige Körper — wobei aber ausdrücklich betont sei, daß sie keine Fermente sind — bald koagulieren, bald lösen und ein Beispiel darstellen, wie der Organismus in seinem Stoffwechsel mit der Bildung derartiger Körper reagiert; wir sehen daraus auch, daß die Bildung der speziell als Immunkörper bezeichneten Substanzen, welche wir mit der Immunität und Heilung von Infektionskrankheiten in Beziehung bringen, nur eine Teilerscheinung allgemeiner biologischer Reaktionen ist.

Analog wie die Hämolyse verhalten sich nämlich die bakteriziden Substanzen des Blutserums, die Bakteriolyse; Blutserum kann nämlich auch Bakterien zerstören, auflösen; bei der Immunisierung mit Bakterien, bei dem Überstehen gewisser Krankheiten, z. B. nach Typhus, sind im Blute solche, auch wieder für bestimmte Bakterien wirksame, spezifische Bakteriolyse reichlich vorhanden; das Bakteriolyse läßt sich ebenfalls in einen thermostabilen Anteil — Ambozeptor — und einen thermolabilen — Komplement — zerlegen. Die Ambozeptoren sind für jede Bakterienzelle wie für jede Blutzelle verschieden; das Komplement kann auch verschieden sein, es kann aber auch für beide Systeme dasselbe sein, für jenes, welches z. B. Lammsblutkörperchen und für das, welches Typhusbazillen auflöst,

wenn diese mit den ihnen zugehörigen Ambozeptoren sich gebunden haben. Dies erweist sich dadurch, daß, wenn man einem Serum, welches z. B. Typhusbazillen und Blutkörperchen löst, zuerst Typhusbazillen zusetzt und

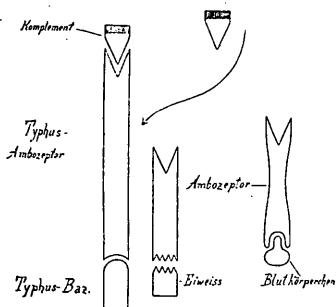


Fig. 1. Komplementablenkung.

Dieses Schema soll versinnlichen, wie bei aufeinander passendem Rezeptor des Antigen (Typhusbazillen, Eiweißmolekül) und des Ambozeptors die Bindung des Komplements an dieses System, respektive Ablenkung vom hämolytischen Systeme eintritt; dieses wird daher nicht ergänzt, was sich durch Ausbleiben der Blutkörperchenauflösung dokumentiert.

nach einiger Zeit die Blutkörperchen, diese nicht mehr gelöst werden; erst wenn man neuerdings etwas frisches, komplementhaltiges Serum zusetzt, tritt die Auflösung der roten Blutkörperchen ein; sehr exakt und sicher läßt sich dieses Verhältnis zeigen, wenn

man einerseits ein inaktives Immunsrum mit den zugehörigen Bakterien und einer bestimmten Menge Komplement versetzt, nach

einiger Zeit das hämolytische System zufügt; die im ersten System eingetretene Bindung des Komplements zeigt sich nun durch Ausbleiben der Lyse der Blutkörperchen an. Dieselbe Erscheinung tritt nun auch auf, wenn statt der Bakterien in diesem Versuche die Filtrate verwendet werden, welche, wie wir früher gehört haben, durch das Immunsrum präzipitiert werden. Wenn man

Typhusbazillen-Filtrat mit Immuneserum und Komplement versetzt stehen läßt und nachträglich das hämolytische System — sensibilisierte Blutkörperchen — zusetzt, so bleibt die Lyse aus, das Komplement ist im ersten System verbraucht, respektive es ist vom anderen System abgelenkt worden (Fig. 1).

Diese Reaktion ist viel feiner als die Präzipitinreaktion und tritt auch auf, ohne daß es in dem ersten System bei sehr starker Verdünnung der reagierenden Eiweißlösung zu einer makroskopisch sichtbaren Niederschlagsbildung gekommen ist; das kann daher kommen, daß es auch eiweißlösende Ambozeptoren im Immuneserum gibt, die Vorstellung von Bordet-Gengou, oder daß bei

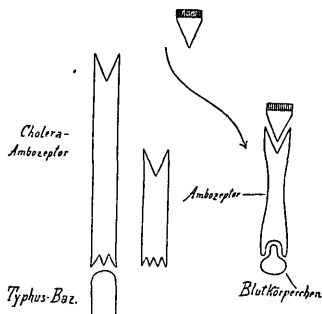


Fig. 2. Komplementbindung.

Fig. 2 soll versinnlichen, wie bei nicht passendem Ambozeptor (z. B. Cholera-Ambozeptor und Typhusbazillen) oder bei Fehlen eines passenden Antigens (entsprechenden Eiweißes z. B.) die Bindung des Komplements an das hämolytische System und damit die Lyse der roten Blutkörperchen zustande kommt (keine Ablenkung).

der Niederschlagsbildung, Präzipitinreaktion, das Komplement mitgerissen wird; das kann auch dann noch immer der Fall sein, wenn bei sehr starker Verdünnung kein sichtbarer Niederschlag entstanden ist; wir stellen uns vor, daß in diesem Falle die feinsten Teilchen zwar auch aus ihrer gleichmäßigen Suspension gekommen sind

und zu größeren, aber noch nicht sichtbaren Aggregaten ausgefällt sind und daß bei dieser Fällung das Komplement mitgerissen worden ist.

Wenn also auch unsere Ansichten über das Wesen dieses Phänomens noch nicht geklärt sind, so steht doch fest, daß, wo eine Präzipitinwirkung stattgefunden hat, die Auflösung der Blutkörperchen ausbleibt, und wo es zu keiner solchen Reaktion gekommen ist, also das Komplement frei erhalten blieb, dies durch die rote Blutlösung deutlich zum Ausdruck kommt (Fig. 2); diese Farbenreaktion ist höchst sinnfällig und wie ich früher bereits erwähnte, dokumentiert sich auch eine kaum mehr sichtbare Präzipitinreaktion auffallend durch das Ausbleiben der Blutauflösung.

Da es sich nach unserer Vorstellung bei diesem Phänomen um die Bindung des Komplementes an das eine System, respektive Ablenkung vom anderen, dem hämolytischen System handelt, so hat die Methode die Benennung der Komplementbindung oder Komplementablenkung erhalten.

Die Methode kann begreiflicherweise verwendet werden entweder zum Bestimmen des Ambozeptors, wenn ich eine bestimmte Bakterienart oder ein anderes Antigen mit dem unbekanntem Serum zusammengebe, oder auch zur Bestimmung des Antigens, wenn dieses zweifelhaft, durch einen bekannten Ambozeptor. So hat Lesourd die Methode für die Diagnose des Typhus am Krankenbett verwendet: Gibt man Typhusbazillen mit einer Serumverdünnung des fraglichen Typhuskranken zusammen,

fügt etwas Komplement in Form frischen Serums bei, läßt es bei 36°C kurze Zeit stehen, gibt dann das hämolytische System dazu, so wird das Ausbleiben der Blutauflösung sagen, daß Typhusbazillen und Krankenserum unter Verbrauch des Komplements reagiert haben, daher das hämolytische System nicht komplettiert worden ist, und umgekehrt zeigt Eintreten der Blutkörperchenlösung, daß zwischen Typhusbazillen und dem Krankenserum keine Beziehung besteht, dasselbe daher nicht von einem Typhuskranken stammt. Die Probe ist feiner als die Agglutinationsprobe, sie wurde positiv befunden, wenn die Agglutination negativ ausgefallen war. Analog wäre die Untersuchung eines Rekonvaleszenten, ob die fragliche, vorausgegangene Krankheit eine epidemische Genickstarre war. Nehme ich in ähnlicher Weise statt Typhusbazillen Meningokokken, so wird wieder der Ausfall der Reaktion einen positiven Schluß gestatten; umgekehrt kann man durch diese Methode erfahren, ob sich bei einer Erkrankung derartige Antikörper, die häufig Schutzkörper sind, gebildet haben, z. B. bei der Tuberkulose; während Kranke häufig derartige Körper im Blute vermissen lassen, können nach Behandlung mit Tuberkulin solche im Blutserum des Kranken auftreten und die Komplementablenkungsmethode läßt dieselben nachweisen.

Die Methode ist noch viel empfindlicher als die Präzipitinreaktion. Als Beispiel ihrer Leistungsfähigkeit sei angeführt: Von einem sehr wirksamen Antimenschen-serum ergeben 0.02 cm² in einer Verdünnung von Menschenserum 1:10,000.000 vollständige Hemmung der

Blutauflösung; menschlicher Schweiß, der im elektrischen Lichtbade direkt von der Haut gesammelt wurde, ergab noch in der Verdünnung von 1 : 10.000 positive Reaktion mit dem genannten starken Antimenschenserum, während die Präzipitinreaktion mit menschlichem Schweiß vollständig negativ bleibt und keinen Niederschlag, selbst mit hochwertigen Seris liefert. Dadurch wird die Methode, welche zwar auch für den Nachweis von menschlichem Eiweiß, respektive Blut zu gebrauchen ist, für die Zwecke der gerichtlichen Medizin aber unzulässig; sie wurde zwar dafür empfohlen, um minimale Spuren Blutes noch nachzuweisen, ihre Feinheit schließt das jedoch aus, denn wenn, wie erwähnt, menschlicher Schweiß bereits in so starker Verdünnung die Reaktion gibt, so ist die Methode z. B. bei der Untersuchung von Wäsche- und Kleiderstücken auf Blutspuren bereits ausgeschlossen.

Diese Methode gestattet somit die Präzipitinreaktion zu unterstützen und dort, wo sie an der Grenze ihrer Leistungsfähigkeit ist und andere Irrtümer nicht vorkommen können, dieselbe zu vervollständigen, z. B. auch bei der Untersuchung von Fleischgemengen, namentlich Würsten.

Bei der außerordentlichen Empfindlichkeit der Methode und bei dem Umstande, als wir in den verschiedenen Flüssigkeiten doch höchst komplexe, in ihren Wirkungen durchaus nicht immer bekannte Körper vor uns haben, ist es natürlich notwendig, immer eine Reihe von Kontrollen vorzunehmen, ob nicht z. B. das Antigen allein hemmt, etc.

Auch für die feinen Differenzierungen nahe verwandten Eiweißes, von Rassen z. B., ist mit der Komplementablenkungsmethode viel untersucht worden; so fand Bruck mittels eines Europäer-Antiserums Differenzen gegenüber dem Blutserum Angehöriger der mogolischen und malaiischen Rasse, ein Befund, dem allerdings auch widersprochen worden ist.

So fein die Methode ist, so gelang es mit derselben nicht, an Mumien eine Reaktion zu erzielen, respektive menschliches Eiweiß nachzuweisen.

In der Medizin hat die Methode in einer Frage eine ausgedehnte Anwendung gefunden, das ist in der Diagnose einer luetischen Erkrankung. Wenn man auch jetzt den Erreger dieser Krankheit, eine Spirochäte, kennt, so ist sein Nachweis diagnostisch nur selten durchführbar und namentlich für die Frage, ob eine latente Erkrankung vorliegt — eine ohne Erscheinungen, und bei dieser Krankheit gibt es ja solche Perioden — oder ob diese Krankheit überstanden worden ist, hatten wir gar kein diagnostisches Hilfsmittel. In Analogie mit dem früher angeführten Beispiele für die Typhusdiagnose hat nun Wassermann eine Methode entwickelt, bei welcher ein Extrakt luetischer Organe mit dem Blutserum des Kranken geprüft wird, in ähnlicher Weise wie z. B. bei Typhus; die Annahme war, daß im Extrakt luetischer Organe Substanzen der Luesspirochäte enthalten sind; bleibt die Lösung der roten Blutkörperchen, die mit einem sensibilisierten Serum versetzt sind, aus, so besteht eine Beziehung zwischen dem Krankenserum und dem Extrakt,

es liegt Lues vor. Der positive Ausfall gilt als recht beweisend, während der negative keinen Schluß gestattet.

Die Wassermannsche Methode wird übrigens nicht nur mit der ätiologischen Grundlage — Extrakt luetischer Organe und damit auch des Lueserregers — angestellt, sondern auch mit anderen Präparaten, so daß eigentlich eine gewisse, uns näher noch unbekannte Eigenschaft des Krankenserums bei Lues damit konstatiert wird.

Nun kennen wir noch eine Methode, welche den Nachweis eines bestimmten Eiweißes gestattet, die Anaphylaxie, deren Erörterung aber zu viel Zeit beansprucht, als daß sie heute noch möglich wäre.

Es ist mir auch leider nicht möglich, näher auszuführen, inwieferne uns in den angeführten Erscheinungen neuerliche Beispiele dafür vorliegen, was für ein außerordentlich fein und rasch regulierter Mechanismus der tierische und menschliche Körper ist, was für außerordentlich feine Veränderungen in ihm vorgehen, inwieferne uns gleichzeitig auch ein weiteres Beispiel vorliegt für den Zusammenhang biologischer Vorgänge für Mensch und Tier, die dazu führten, daß wir beim Studium der erworbenen Immunität gegen Typhus und Cholera Eiweißreaktionen kennen gelernt haben, die nicht nur feiner als die chemischen Methoden sind, sondern auch noch die Herkunft des Eiweißes bestimmt erkennen lassen, und inwieferne uns diese Erscheinungen auch weitere augenscheinliche Beweise für den Zusammenhang der so kolossal mannigfaltig geformten lebenden Welt darbieten.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Schriften des Vereins zur Verbreitung naturwissenschaftlicher Kenntnisse Wien](#)

Jahr/Year: 1910

Band/Volume: [50](#)

Autor(en)/Author(s): Paltauf Richard

Artikel/Article: [Die biologischen Eiweißreaktionen und ihre Anwendung in der Medizin und Naturwissenschaft. 371-400](#)