

## Zur Theorie der Sero-Diagnostik.

Von CARL MEZ und H. ZIEGENSPECK (Königsberg Pr.).

## EINLEITUNG.

Seit dem Jahre 1911 werden im Botanischen Institut der Universität Königsberg in Form einer Sammelforschung sero-diagnostische Untersuchungen über die Eiweiss-Verwandtschaften der Pflanzenwelt gemacht. Diese Forschungen gehen nur allein von dem Gesichtspunkt aus, die phylogenetischen Verhältnisse der Pflanzen-Reihen und -Familien zu klären; ihre Ergebnisse haben mehr und mehr Anerkennung gefunden.

Nicht beabsichtigt bei diesen Forschungen war, über die Theorie der Serum-Reaktionen irgend welche Aufklärungen zu erhalten. Dieses Arbeitsfeld ist seit BEHRING und EHRLICH der medizinischen Immunitäts-Forschung vorbehalten gewesen. Eine grosse Menge bedeutender Arbeit wurde von den Medizinern auf diesem Gebiete geleistet. Die Medizin mit ihrer Erforschung der Krankheits-Ätiologie, mit ihren Hilfsmitteln der Erkennung der Krankheiten, (auch derjenigen der Versuchstiere) ist der botanischen Anwendung der serologischen Methoden derart überlegen, dass sie in allerester Linie berufen ist, hier bahnbrechend weiter zu arbeiten. Wir haben nur einen kleinen Abschnitt der medizinischen Forschungs-Ergebnisse zu praktischer Anwendung für unsere botanischen Ziele gebraucht und, unter peinlicher Innehaltung der induktiv als vergleichbar erkannten Versuchs-Spanne, unsere Folgerungen aus den Versuchs-Ergebnissen auf botanisch-systematischem Gebiet gezogen.

Dabei war allerdings nicht vermeidbar, dass uns bei den Hunderttausenden von Einzel-Versuchen, die nun den Bestand der Untersuchungen und Traditionen unseres Instituts bilden, auch Varianten der zu erwartenden Ergebnisse, Abweichungen von der Regel, Störungen der Versuchs-Resultate entgegen traten. Durch oft langwierige und mühevoll Parallel- und Nachuntersuchungen waren wir gezwungen, Unstimmigkeiten aufzuklären und dadurch mehr Erfahrungen zu sammeln, als sie gemeinlich bei medizinischen Forschungen gewonnen werden. So ergaben sich, gewissermassen als Neben-Resultate, Erkenntnisse, welche wir im folgenden darzulegen uns bemühen wollen. Wir sind uns aber dessen bewusst, dass wir weit davon entfernt sind, irgend etwas Definitives vorlegen zu können. Anregungen stellen wir hier zur Diskussion mit der ausgesprochenen Bemerkung, dass durch das Resultat der Meinungs-Ausserung über die im folgenden dargelegten Ansichten die eigentlichen Ergebnisse unserer Versuche über Eiweiss-Verwandtschaften im Pflanzenreich in keiner Weise tangiert werden. Diese gründen sich auf lauter unter gleichen Verhältnissen angestellte und deshalb unter allen Umständen direkt vergleichbare Reaktionen; ihr Bereich ist empirisch festgestellt; ihre Giltigkeit wird ebenso wenig von der Theorie berührt wie die Voraussage von Sonnenfinsternissen, mögen diese nach den Theorien des Ptolemäischen oder des Kopernikanischen Weltbildes errechnet sein.

## DIE EHRLICH'SCHE SEITENKETTEN-THEORIE.

Stellen wir an die Spitze der Erörterungen die EHRLICH'sche Theorie über die Präzipitation:

Bei der Immunisation wird durch ein eingespritztes, artfremdes Eiweiss (Antigen) ein im Serum des Versuchstieres in Lösung bleibender Eiweiss-Körper (Ambozeptor) gebildet, welcher bei Gegenwart eines unbekanntes thermo-labilen Eiweiss-Körpers des Serums (Komplement) mit einer Lösung des Antigens sich zu einem unlöslichen, deshalb ausflockenden Eiweiss-Körper ergänzt.

Nach dieser Theorie müssten die sich bildenden Niederschläge sich durchwegs proportional den vorhandenen Mengen von Ambozeptor und Komplement verhalten; es müssten bei positiver Reaktion stets die Ausfälle gleichmässig abnehmend von den geringeren zu den stärkeren Verdünnungen verlaufen. Dies ist tatsächlich in einer sehr grossen Menge von Fällen eingetreten.

In nicht wenigen anderen Fällen aber zeigte sich, dass der entstehende Niederschlag nicht von dem einfachen Mengenverhältnis der vorausgesetzten Eiweiss-Stoffe abhing, sondern anderen Gesetzen folgte. Hier war es, der vorhandenen medizinischen Literatur folgend, zunächst wahrscheinlich, dass die Erscheinung der Komplement-Ablenkung vorlag.

Wenn wir der Arbeitsweise der medizinischen Forscher folgen, setzen wir eine Untersuchungs-Reihe mit fallenden Immunkörpern an:

Extrakt = Antigen	Konst.							
Immuneserum	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,0025	0,001	0,0005
Komplement = Normalser.	Konst.							
Reaktion = Ausfall	-	-	1	2	3	2	1	-

In dieser Reihe versagen die beiden ersten Reaktions-Gläser. Die Erklärung für dieses Phänomen suchten NEISSER und WECHSBERG in einer völlig folgerichtigen Anwendung der EHRLICH'schen Seitenketten-Theorie. Mit der von ihnen angenommenen Komplement-Ablenkung verbinden sie folgende Vorstellung:

Eine übergrosse Menge von Ambozeptor findet nicht eine hinreichende Menge von Komplement, um sich völlig damit abzusättigen. Genau das Gleiche gilt für das Antigen. Es tritt also der Fall ein, dass an den Enden der dargestellten Reihe nur ausserordentlich wenige Ambozeptoren die Möglichkeit haben, sich das eine mal mit Antigen, das andere mal mit Komplement abzusättigen.

Dies sei, da die infrage kommenden Theorien nicht einmal sämtlichen Medizinern, geschweige denn den übrigen Naturwissenschaftlern geläufig sind, etwas näher auseinandergesetzt. Bleiben wir bei der oben ganz kurz berührten Theorie der Präzipitation, so sind für ihr Zustandekommen drei Eiweiss-Körper notwendig: 1. das Immuneserum; 2. das Antigen und 3. das (in jedem frischen Blut enthaltene) Komplement. Um nun eine Präzipitation zustande zu bringen, muss sich nach EHRLICH der Immunkörper mit einer nicht spezifischen Seite mit dem Komplement, dagegen mit seiner spezifischen Seite mit dem Antigen verbinden. Solche nach zwei Seiten hin wirkende Körper bezeichnet er als Ambozeptoren. Die Komplement-Ablenkung erklärt sich nun durch die in übergrosser Menge zugegebenen Ambozeptoren. Bei der nur beschränkten Menge von Komplement kann sich nur ein Teil des Immuneserums mit diesem beladen und die Wahrscheinlichkeit, dass gerade die gesättigten Ambozeptoren auf die Antigene stossen (was zum Zustandekommen der Reaktion notwendig ist), ist bei ihrer Überzahl gering. Die meisten Ambozeptoren werden zwar ein Antigen, aber kein Komplement fassen.

Vielleicht wird diese Theorie am besten durch ein Zahlen-Beispiel erläutert. EHRLICH hält die Bildung der Präzipitate für ein Analoges der Säure-Bindung durch Alkali. Daher können wir ruhig den Begriff des Äquivalentes einführen, obwohl wir uns dessen bewusst sind, dass dies nur ein Bild ist.

Wir machen die Annahme, das Glas 1 der obigen Reihe enthielte nur 5 Äquivalente Immunkörper 1). In diesem Glase vereinigen sich, gleiche Geschwindigkeit der Vereinigung der Ambozeptoren mit beiden Gruppen angenommen,

5I:K, 5I"A; frei bleiben 90I.

Die Wahrscheinlichkeit, dass die zur Bildung des Präzipitats notwendige Bindung K:I"A zustande kommt, ist also sehr gering; durch die kleinen Mengen der ge-

1) Im folgenden soll Äquivalent einfach durch die Zahl bezeichnet werden; für Immunkörper werde die Abkürzung I, für Komplement die Abkürzung K, für Antigen die Abkürzung A eingeführt. Die Ambozeptor-Eigenschaft wird durch das Zeichen " dargestellt; die gegenseitige Bindung durch : . Also bedeutet K:I", dass der Immun-Ambozeptor ein Komplement gebunden hat, während seine spezifische Gruppe noch frei ist. - K:I"A bedeutet: es ist eine Bindung von Komplement mit Immun-Ambozeptor und Antigen (also ein Präzipitat) entstanden.

bildeten Präzipitate wird also eine unzweideutige Präzipitation (und nur eine solche wird bei den Versuchen gewertet) nicht erzielt.

Im zweiten Glas der obigen Reihe fallen die I auf 50. Dadurch wird folgende Wahrscheinlichkeit der Bildung von K:I"A zustandokommen: Die 5 K verteilen sich bei Annahme gleicher Bildungs-Geschwindigkeit:

$$0,5 K:I"A \quad 4,5 K:I" \quad 4,5 I"A.$$

Somit ist auch in Glas 2 die Bildung eines Präzipitats noch sehr gering.

Im dritten Glas liegen die Verhältnisse bereits günstiger: Auf 25 I kommen 5 A und geben 5 I"A und 20 I"; durch Zutritt von 5 K entstehen:

$$1 K:I"A \quad 4 K:I" \quad 4 I"A.$$

Es soll die Gegenwart von 1 Präzipitat das eben ablesbare Erscheinen eines Niederschlages bedeuten = (1).

Im vierten Glas sind 12,5 I; wir wollen aber, um der Einfachheit wegen nicht mit Bruchzahlen zu rechnen, annehmen, es seien nur 10 I. - Auf 10 I kommen 5 A und geben 5:I"A und 5,I"; durch Zutritt von 5 K: gestaltet sich das Bild (2) wie folgt:

$$2,5 K:I"A \quad 2,5 K:I" \quad 2,5 :I""A \quad 2,5 "I".$$

Im fünften Glas kommen dann auf 5 I ebenfalls 5 A und 5 K; wir erhalten dann eine vollständige, maximale Präzipitation:

$$5 K"I"A (3).$$

Im sechsten Glas fällt der Immunkörper auf 2,5 I und somit das Präzipitat auf

$$2,5 K"I"A = (2).$$

Das siebente Glas gibt, da A und K beide im Überschuss sind, auf:

$$1 I \text{ ein } K:I"A, \text{ also } (1).$$

Im achten Glas ist nunmehr 0,5 K:I"A, also kein ablesbarer Niederschlag mehr vorhanden.

Aus diesem Beispiel geht hervor, dass für die Versuchs-Anstellung mit fallendem Immuserum die Interpretation von NEISSER und WECHSBERG (Komplement-Ablenkung) sehr klar ist und zutreffend erscheint.

#### DIE SEITENKETTEN-THEORIE IST NICHT HALTBAR.

Um die störende Komplement-Ablenkung zu vermeiden, haben wir aber bei unsern botanisch-serologischen Untersuchungen von vorneherein mit gleichbleibenden Immuserum-Mengen gearbeitet und das Antigen fallend angeordnet. Bei dieser Versuchs-Anstellung benötigt man zwar mehr Serum, aber der angestrebte Vorteil schien den Nachteil reichlich aufzuwiegen.

Trotzdem haben wir auch bei dieser Versuchs-Anordnung sehr häufig ein Versagen der ersten Gläser beobachtet. Zunächst haben wir derartig laufende Versuche bei der Wertung der Versuchs-Ergebnisse völlig ausgeschaltet; wir fanden dann aber, dass (unter Vernachlässigung der ersten Gläser) die Reaktionen der positiv ausfallenden folgenden Gläser mit dem Eiweiss-Verhalten, welches wir aus Gegen- und Parallel-Reaktionen erwarten durften, trefflich übereinstimmten und haben, zunächst mit grosser Vorsicht, dann immer zuversichtlicher auch solche Reaktions-Reihen unsern Schlüssen zugrunde gelegt. Dass dies berechtigter Weise geschah, soll im folgenden dargelegt werden:

Eine Reihe dieses Verhaltens sei im folgenden dargestellt:

Extrakt	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,005	0,001	0,0005
Immuserum 0,1	Konst.							
Komplement	Konst.							
Reaktion	-	-	1	2	3	2	1	-

Diese Reihe ist nach der bisherigen Auffassung der EHRlich'schen Theorie nicht erklärlich.

Man könnte allerdings, um die schon an sich "sehr anpassungsfähige" Seitenketten-Theorie auch in diesem Falle zu retten, folgende Annahme machen: Auch das Antigen, nicht nur der Immunkörper, könnte Komplement binden.

Das Zahlen-Beispiel von vorhin sei wieder herangezogen: Nehmen wir an, das Immuns serum enthalte nur 5 : I"K, seine spezifischen Gruppen seien bereits durch eigenes Komplement gesättigt und daneben seien noch 5 freie Komplemente (K:) vorhanden. Dann müssen wir, unsere Bezeichnungen logisch weiter entwickelnd, folgende Beziehungen setzen:

$$K: \quad :A'' \quad "I: \quad :K'' \quad = K:A''I:K.$$

Mit Worten ausgedrückt heisst das dann, dass Komplement plus Antigen-Ambozeptor plus Immuns serum-Ambozeptor plus Komplement gleich Präzipitat ist.

Aus einem ternären System wäre damit ein quaternäres geworden. Für die Rechnung haben wir die vereinfachende, wohl statthafte Annahme der Bindung des Komplements im Immuns serum durch eigenen Ambozeptor gemacht.

Das Extrakt enthalte in 0,1 cem = 100 :A''.

Die Rechnungen bleiben dann wie in der vorhergehenden Staffel. Im ersten Glas wie auch im zweiten gibt es keinen Niederschlag; in den folgenden Gläsern gelten dann die Zahlen 1, 2, 3, 2, 1, 0.

Mit dieser Hilfs-Annahme kann man sehr schön das Versagen der Präzipitation in dem oben dargestellten Fall erklären, wenn man auch zugeben muss, dass die Antigen Menge von 100 :A'' sehr hoch gegriffen ist. Dieselbe Immuns serum-Menge müsste im ersten Fall ganz ausserordentlich viel Komplement binden; im zweiten Fall müsste das Antigen sich ebenso verhalten.

Dieser an sich keineswegs unmöglichen Annahme (wir haben keinerlei Verfahren, um die Mengen der einzelnen Eiweiss-Körper zu bestimmen oder auch nur glaubhaft zu taxieren) widerspricht aber die Beobachtung, dass das eine mal dieselbe Serum-Menge, das andere mal dieselbe Extrakt-Menge ablenken soll. Dies haben die reziproken Versuche ergeben.

Werden die Versuche nun derart angestellt, dass man Serum allein zugibt, ohne dass man Normal-Serum zufügt, so beobachtet man auch das Versagen der ersten Gläser, während in den hinteren die Fällung eintritt. Dies geschieht, obgleich das Antigen konstant blieb und obgleich wir das Serum bei konstantem Antigen fallen liessen.

In diesem Falle könnte es niemals zu einer Fällung kommen, wenn das Antigen ebenso wie das Immuns serum ablenken würde. Denn im Verhältnis zur Verminderung von Serum und Komplement müsste die Ablenkung immer stärker werden.

Dies ist am besten rechnungsmässig zu erweisen. Die Theorie kann nur dann richtig sein, wenn sich bei dieser Versuchsanordnung ein Maximum ergibt und nach oben und unten eine Abnahme.

Wir wollen annehmen, dass das Antigen und ebenso der Immunkörper ein Komplement binde. Bei völliger Bindung müssten beispielsweise kommen auf 100 :A'' 100 "I: und 200 :K; beim Fallen der Serum-Menge gäbe das dann, weil mit dem Immunkörper das Komplement in gleichen Masse fällt:

K:A''	:A.	K:I''	:I''	K:
100	0	100	0	0
66	34	33	17	0
40	60	10	15	0
22,5	77,5	2,5	10	0
beim Steigen dagegen:				
100	0	200	0	100

Somit ist es, wenn wir die Theorie der zweifachen Ambozeptoren einführen, völlig unmöglich, dass es durch allein steigendes Serum eine Komplement-Ablenkung geben könnte. In Wirklichkeit ist sie aber zu beobachten. Damit ist erwiesen, dass die EHRlichSche Seitenketten-Theorie für diese Fälle versagt.

Zum gleichen Ergebnis kommen wir auch bei unsern Beobachtungen über die Konglutination. Auch hier haben wir sehr oft gefunden, dass das erste Glas oder auch die ersten Gläser (bei sehr hohen Eiweiss-Konzentrationen) in der Reaktion versagt haben.

Die Konglutination ist ihrem tieferen Wesen nach eine Präzipitation mit fallendem Immunserum; das Komplement wird zunächst nicht konstant gehalten. Eine Zugabe von Rinder Serum sorgt durch das in grossem Überschuss vorhandene Komplement (hier Konglutin genannt) für ein "Aussalzen" des Präzipitats.

Schon wenn die (allgemein angenommene) Voraussetzung eines einfachen Ambozeptors gemacht wird, dürfte bei der Konglutination ein Versagen des ersten Glases nicht eintreten; noch viel weniger dürfte dies der Fall sein, wenn die Voraussetzung doppelter Ambozeptoren eingeführt wird.

#### ANALOGIEN AUS DER KOLLOID-CHEMIE FÜR DEN KURVEN-VERLAUF BEI DER PRÄZIPITATION.

Nach den vorstehenden Ausführungen kommen wir mit der EHRlichSchen Seitenketten-Theorie für die Erklärung der von uns gefundenen Abweichungen von der durch

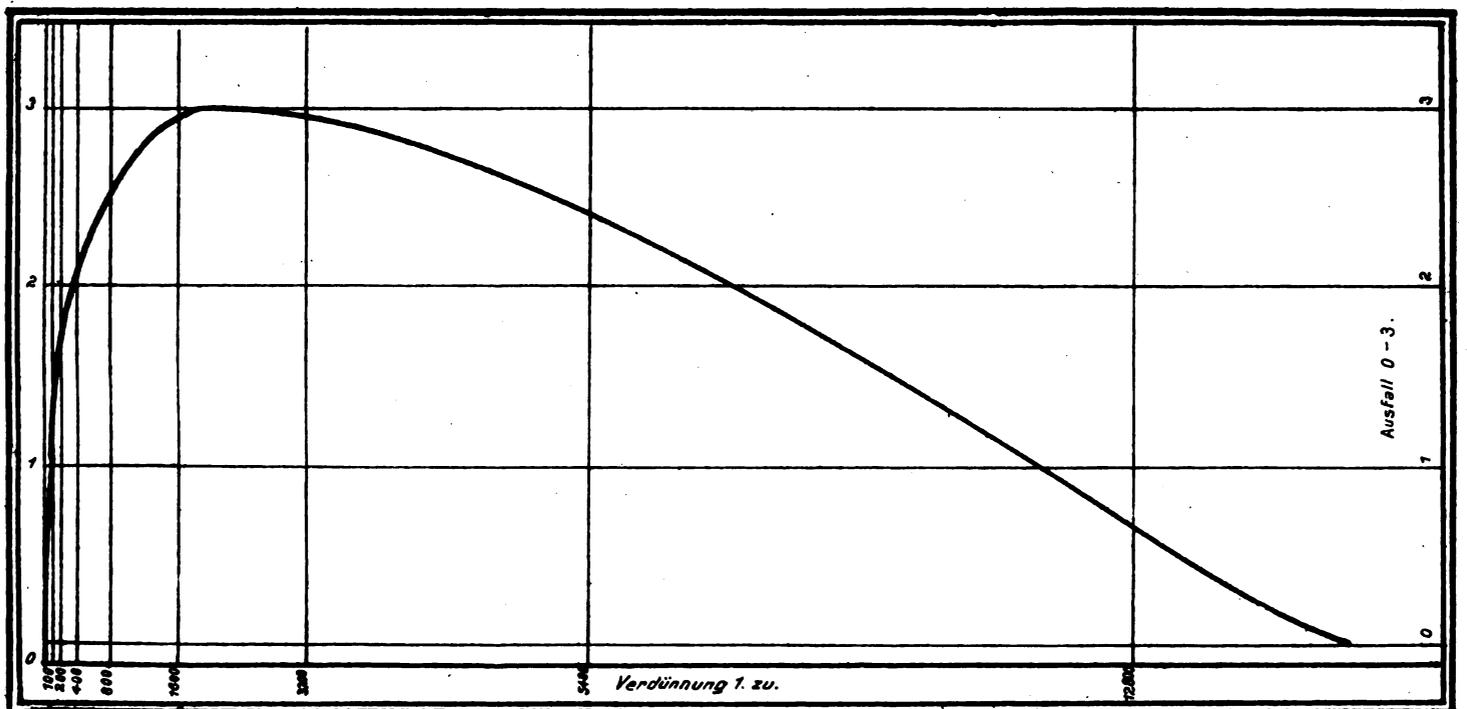


Fig. 1.

die medizinischen Forscher dargelegten Regel nicht aus und müssen uns nach andern Erklärungs-Möglichkeiten umsehen.

Um für unsere folgenden Ableitungen möglichst anschauliche Unterlagen zu geben und die weitere Behandlung zu erleichtern, sei zunächst eine Präzipitations-Kurve bei gleichbleibendem Präzipitin und gleichbleibendem Komplement dargestellt (Fig. 1).

Auf die Horizontale eines Koordinaten-Systems tragen wir die Entfernungen im

Verhältnis der Nenner der Verdünnungen aus. 1 bedeutet dann Verdünnung 1 : 100, 2 = 1:200, 4 = 1:400, 8 = 1:800 etc.

In den Endpunkten dieser Strecken, also der in Wirklichkeit angesetzten Gläser der Versuchsreihe, errichten wir Senkrechte.

Auf der Vertikalen tragen wir die *s c h ä t z u n g s w e i s e* ermittelten Stärken der Ausfälle ein; es soll also wiedergeben 1 = wahrnehmbare Fällung, 2 = deutliche Fällung, 3 = starke Fällung. Dabei sind wir uns dessen bewusst, dass solche Schätzungs-Methoden nur ganz ungefähr ermittelte Brutto-Größen ergeben können. Eine genauere, mehr oder minder quantitative Schätzung der Ausschläge, wie sie bei Hämolyse durch kolorimetrische Methoden sich bewerkstelligen liesse, würde uns über den Verlauf der Kurve ein viel feineres Bild geben. Auf diesen Punkt werden wir nochmals zurückkommen müssen.

Betrachten wir nun eine Anzahl solcher empirisch ermittelter Kurven vergleichend, so sehen wir bei *n i e d r i g e n* Immunitäten zunächst einen steilen Anstieg. Diesen hatten wir früher nicht gefunden, weil wir bereits mit Verdünnung 1:100 anzufangen pflegten; er tritt aber bei schwächeren Verdünnungen, soweit wir sehen können, allgemein entgegen; der Anstieg der Kurve darf als typisch angesehen werden.

Von dem in diesen Fällen niederer Immunität rasch erreichten Höhepunkt ab fällt die Kurve langsam und stetig.

Jedes Immuneserum hat so für jedes Antigen eine ganz charakteristische Kurve; auf diesen für die Spezifität der Eiweiss-Stoffe bezeichnenden Punkt werden wir noch zurückkommen. Bei aller Mannigfaltigkeit der Einzelfälle aber können wir die Regel aufstellen: Jedes Immuneserum gibt, mit einer fallenden Menge Antigen versetzt, wenn es selbst ebenso wie das Komplement konstant bleibt, eine Maximum - Optimum - Minimum-Kurve.

Betrachten wir die Kurve von der rechten Seite beginnend, so muss eine bestimmte Menge Antigen vorhanden sein, um mit einem bestimmten Immunkörper überhaupt eine Präzipitation zu geben (Minimum).

Mit steigender Menge, aber nicht in einfachem Verhältnis hierzu, steigt der Ausschlag bis zu einem Optimum.

Bei weiterem Steigen fällt die Präzipitat-Menge, um von einer gewissen Grösse ab zu verschwinden (Maximum).

Dieselbe Regel kann auch für die fallenden Sera bei gleichbleibender Antigen- und Komplement-Menge beobachtet werden. Damit nimmt die Regel die Form an:

Sowohl ein Überschuss von Serum wie ein Überschuss von Antigen verhindert die Präzipitation. Serum wie Antigen müssen im richtigen Verhältnis zueinander abgestimmt sein, um eine optimale Fällung (für den Fall, dass das nötige Komplement vorhanden ist) zu erzeugen.

Andererseits bedarf es eines bestimmten Minimums von Antigen wie von Immunkörper, um überhaupt eine Präzipitation zu ermöglichen.

Wenn, wie wir gezeigt haben, für dies Verhalten die aus der EHRlich'schen Seitenketten-Theorie genommenen Vorstellungen keine Erklärung bieten können, so müssen wir uns in der Kolloid-Chemie umsehen um hier vielleicht Analoga zu finden. Die Eiweiss-Stoffe sind Kolloide, nach dem Versagen der andern chemischen Betrachtungen können wir wohl am ehesten in der Kolloid-Chemie Ähnlichkeiten erwarten. Insbesondere das Kapitel der Schutz-Kolloide muss zum Vergleich herangezogen werden. - Auf die Arbeiten von BILTZ (Ber. D. chem. Ges.) sei hier besonders verwiesen.

Bringen wir zwei disperse Systeme, von denen das eine positiv, das andere negativ geladen ist, zusammen unter Variation der Mengen, so können folgende Fälle eintreten:

1. Der Betrag der negativen Ladung überwiegt den der positiven oder umgekehrt; dann wird die disperse Phase vollkommen umgeladen, im ersten Fall negativ, im zweiten positiv, und es bleibt ein Sol in Lösung, dessen Teilchen die Ladung der Hauptmenge tragen.

2. Der Betrag beider Ladungen ist ungefähr von gleicher Grösse; es erfolgen dann Niederschläge ähnlich etwa der Elektrolyt-Koagulation. Die Fällung ist nur

vollständig, wenn die Ladungen beider Teilchen nahezu gleich gross ist, sonst tritt nur eine teilweise Fällung ein.

Es fällt auf, dass diese beiden Fälle eine merkwürdige Ähnlichkeit mit den bei den serologischen Niederschlägen beobachteten Möglichkeiten aufweisen: hier verhindert der Überschuss der beiden Komponenten, über deren Ladung wir nichts auszusagen vermögen, die Ausflockung vollständig oder teilweise. So könnte uns das Beispiel ein Verständnis der Immunisations-Wirkungen vermitteln. Nur kann nicht entgehen, dass es insofern nicht ohne weiteres zutrifft, als bei ihm zwei Körper die Reaktionen miteinander eingehen, während zu der Präzipitations-Ausfällung dreie notwendig sind. Aber auch für diesen Fall scheinen in der Kolloid-Chemie Analoga vorhanden zu sein.

Betrachten wir das System kolloidales Aluminium-Sol und kolloidales Kieselsäure-Sol, so stellt es ein gutes Beispiel für eine einfache Schutzkolloid-Wirkung dar. Geben wir nun als drittes Kolloid-Sol die Humussäure zu, so erhalten wir zunächst, ebenso wie dies bei unsern Serum-Wirkungen der Fall ist, innerhalb bestimmter Grenzen überhaupt keinen Ausfall von Ton (dem Präzipitat zu vergleichen). Die Fällungen treten erst auf, wenn die Mengen des Humussäure-Sols bestimmte Grenzen überschreiten; mit noch weiter steigenden Mengen der Humussäuren hören sie wieder auf.

Die Verhinderung der Fällung stellt also eine Schutzkolloid-Wirkung dar; die Fällung hat sowohl nach der Seite der fallenden wie auch der steigenden Mengen ihre Grenzen. Oder mit andern Worten: das Humus-Kolloid ruft im Überschuss die Fällung eines aus Aluminium-Sol und Kieselsäure-Sol bestehenden Systems hervor; dann kommt ein Bereich, in dem das ohnedem erfolgende Ausflocken zu Ton unterbleibt infolge der Schutzkolloid-Wirkung des Humus; aber auch diese hat mit sinkender Menge ihre Grenze.

Versuchen wir, diese aus der Kolloid-Chemie genommene Auffassung auf den einfachen Fall der serologischen Präzipitation anzuwenden:

Bei Gegenwart eines Komplements in konstanter Menge vermag ein Immun-Serum eine bestimmte Menge von Antigenen zu fällen; sobald aber ein Überschuss des einen oder andern Kolloids vorhanden ist, wird eine Schutzkolloid-Wirkung ausgelöst.

Doch ist gegenüber den anorganischen Kolloiden offenbar ein sehr erheblicher Unterschied vorhanden, welcher in einem spezifischen Abgestimmt-sein von Komplement und Antigen besteht. Das, was die gegenseitige Ausfällung in unsern Fällen hervorruft, wird schwerlich ein Ladungsausgleich sein, sondern die beiden Körper müssen, was eben aus ihrer Spezialität hervorgeht, eine "Affinität" zu einander besitzen.

Immerhin kennen wir solche "Affinitäten", solches aufeinander Abgestimmtsein von Fermenten her und es erscheint demnach nicht unmöglich, auch diesen Begriff der Affinität unsern kolloid-chemischen Betrachtungen einzufügen. Nur ist hier zu erörtern, wie es denkbar ist, dass zwischen Molekülen und Molekül-Gruppen (wie es ja die Kolloide sind) Affinitäten auftreten können.

Inwieweit fermentative Vorgänge mit unsern Reaktionen verquickt sein können, sei an dem recht verwickelten Beispiel der kolloidalen Betrachtung der WASSERMANN-Reaktion dargestellt:

Hier könnte die Gegenwart einer bestimmten Menge von Komplement auf ein System hämolytisches Serum und Blutkörperchen als Schutzkolloid wirken. Die Gegenwart eines zweiten Systems Antigen und Immunkörper wird durch das Komplement ebenfalls beeinflusst. Es entstehen Ausflockungen oder Vergrößerungen der Sole, welche in mehr oder minder hohem Masse das Komplement adsorbieren und niederreißen. Dadurch kann die noch übrig bleibende geringe Menge von Komplement (welches eventuell ganz verschwunden sein kann) das nach der Sensibilisation zugegebene aus hämolytischem Serum und Blutkörperchen bestehende System nicht mehr beeinflussen. Dann werden die Blutkörperchen ganz oder teilweise nicht mehr peptisiert. - Hier kann die Einwirkung des Komplements unmittelbar mit der Lösung von Ton durch Humus-Kolloide verglichen werden.

Auch die sonstigen serologischen Reaktionen lassen sich ebenso in dem kolloid-chemischen Gewande interpretieren.

Wie bereits gesagt, bereitet unserer Anschauung die Spezifität der Reaktionen eine gewisse Schwierigkeit. Aber dieselbe Schwierigkeit besteht auch für die EHR-  
LICHsche Seitenketten-Theorie und wir haben darauf hingewiesen, dass die geforder-  
te "Affinität" sich in der ganzen Chemie der Fermente wiederfindet. Das Bild von

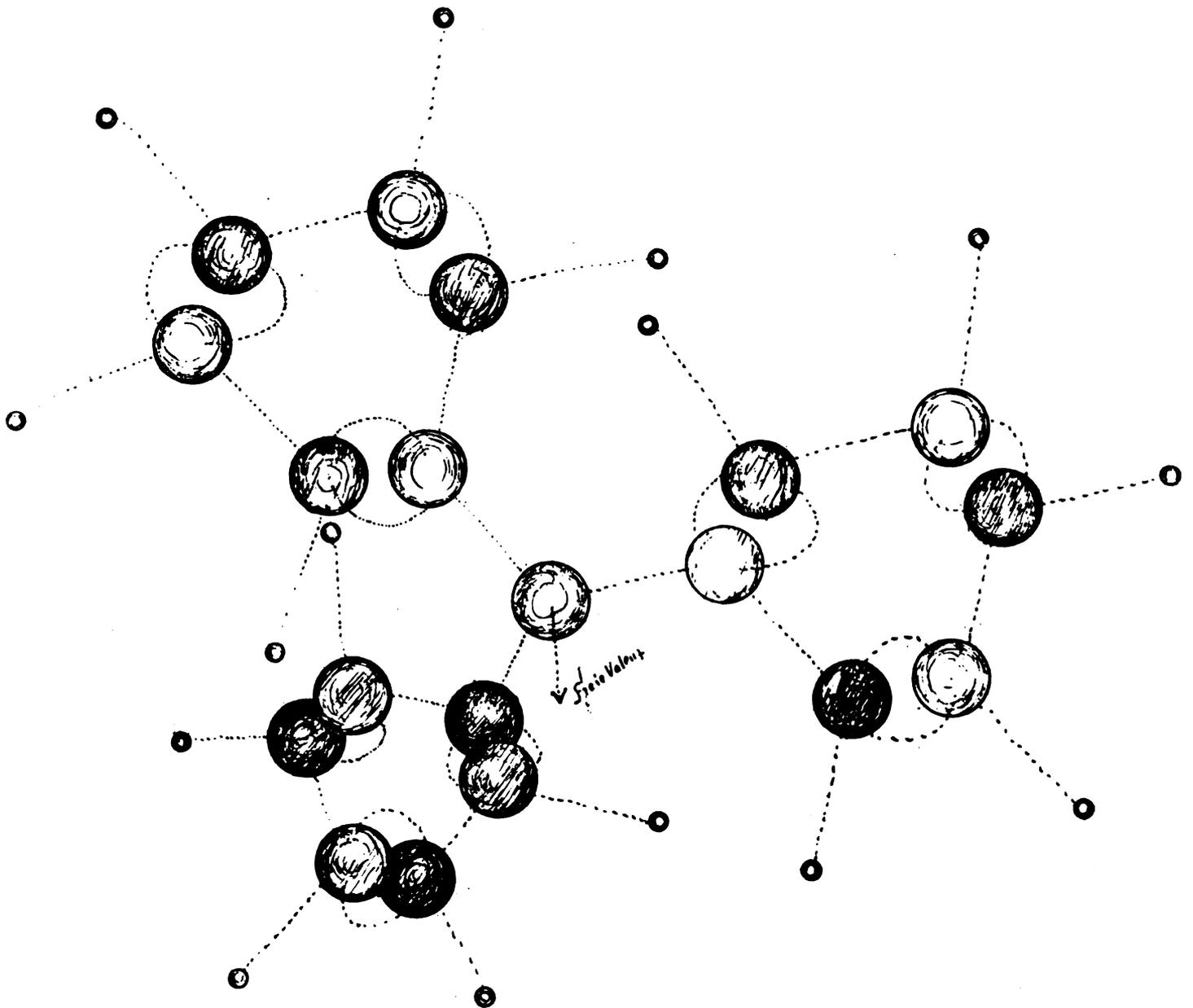


Fig. 2.

Schloss und Schlüssel ist zwar sehr schön, aber es ist nur eine Umschreibung der beobachteten Tatsachen und sagt uns über diese nichts Neues aus. EHR-  
LICH denkt dabei an reine Oberflächen-Strukturen; wir möchten eher an chemische Nebenvalenzen denken. Dabei sind wir uns der völlig hypothetischen Bedeutung der folgenden Gedankengänge wohl bewusst.

Ein Beispiel aus der organischen Chemie möge zur Grundlage unserer Ableitungen dienen: der dreiwertige Kohlenstoff im Triphenylmethyl (Fig. 2). Bei dieser Verbindung nimmt man an, dass die vierte Valenz des Kohlenstoffes deshalb nicht

so recht in Wirkung treten kann, weil die drei Phenyl-Reste keinen Platz mehr für eine gegenseitige Verbindung zu Hexamethyläthan übrig lassen.

Auch wenn wir uns von der Auffassung der Valenzen als Linien frei machen und nur an Kraftlinien denken, welche von dem in sich komplexen Zentral-Atom ausgeht werden, kann man sich die Sache dadurch begreiflich machen, dass die Valenzkräfte auf die Atome eine bestimmte Reichweite besitzen. Je ferner die beiden sich bindenden Kohlenstoff-Atome zu liegen kommen, umso lockerer und schlechter ist ihre gegenseitige Bindung. Es gäbe für diese Auflockerung einer Valenz durch "Abdrängen"

infolge Beladens des Atoms mit räumlich ausgedehnteren Gruppen eine Reihe von Fällen. Diese Tatsachen mögen hier (natürlich nur für Nicht-Chemiker) ausgeführt und durch Bilder erläutert werden. - Aber auch aus dem Reich der Nebenvalenzen, also der Wirkungen von ganzen Molekülen aufeinander vermittelt besonders geeigneter Atome gibt es eine ganze Reihe solcher Unmöglichkeiten von Bindungen infolge räumlicher Unmöglichkeiten der Bindung

Wir möchten da die Bindung der Diamine (Fig. 3) als ein geeignetes und wohl bekanntes Beispiel hervorheben. Überhaupt sind wir der Ansicht, dass sich noch viele Eigenschaften der Kolloide auf Nebenvalenzen oder analoge Dinge werden zurückführen lassen.

Während zum Beispiel ein dreiwertiges Kobalt-, Chrom- oder Eisen-Atom zwei seiner Nebenvalenzen durch das Äthyldiamin oder 1,3 Propylendiamin abköttigen lässt, vermag ein 1,4 Butylendiamin das nur mit einer Nebenvalenz. Dagegen vermag ein 1,2 Butylendiamin zwei Valenzen zu köttigen. - Die Ursache dieser Erscheinungen liegt nur in der räumlichen Entfernung der beiden ebenfalls eine Nebenvalenz köttenden Amino-Gruppen.

Dass bei solchen Bindungen durch Neben-Valenzen ein völliges Köttigen etwa nach Art des Triphenylmethyl auch stattfinden kann, ist sehr wohl denkbar.

Diese Vergleiche zeigen, dass eine Spezifität von Kolloiden im Hinblick auf gegenseitige Köttigung von Ladungen, also eine wechselnde Affi-

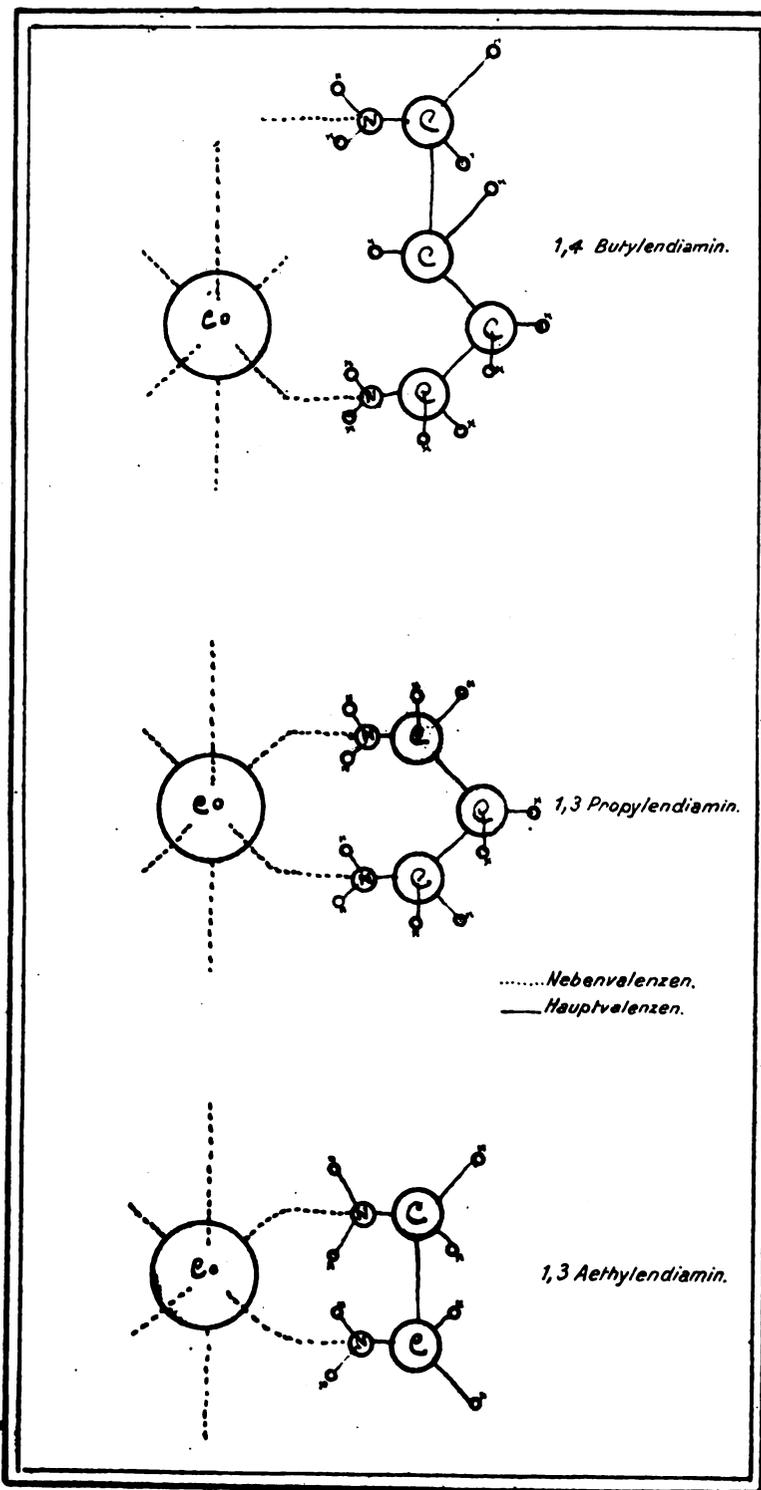


Fig. 3.

nität, wohl vorstellbar ist.

Aber immer bleibt diese qualitative Seite der Immunisations-Reaktionen (ebenso wie die der Ferment-Reaktionen) uns noch völlig rätselhaft. Hypothesen werden dadurch gestützt, wenn man sie mit andern Hypothesen, wie es die geschilderten Struktur-bedingten Eigenschaften sind, in Verbindung bringt, aber sie bleiben doch immer hypothetisch. Nur sagen uns solche Erwägungen allerdings etwas mehr, als dies das Bild von Schloss und Schlüssel zu tun vermag.

Bevor wir unsere Erfahrungen bei steigenden Immunitäten schildern wollen, müssen wir noch auf einige Erscheinungen zurückkommen, welche bei der derzeit üblichen Ablesung durch Abschätzen der Niederschlags-Mengen nur selten, wir möchten sagen nur in ganz extremen Fällen, zur deutlichen Beobachtung kommen.

#### DIE ZWEI- ODER GAR MEHRGIPFLIGKEIT DER REAKTIONSKURVEN.

Die im folgenden darzustellenden Versuche, Beobachtungen und Theorien hatten eine Immunisation mit *Azolla* behufs Verwandtschafts-Feststellung dieses Wasserfarns zur Grundlage.

Es ist bekannt, dass *Azolla* niemals rein für sich allein vorkommt, sondern stets mit der endophytischen *Anabaena Azollae* vergesellschaftet. Das Immunisations-Material musste hier also aus zwei, und zwar systematisch sich sehr fern stehenden Pflanzenformen zusammengesetzt sein: einem Wasserfarn und einer Blau-Alge.

Nachdem die Reaktionen mit den *Azolla* nahe stehenden Farnen zu einem vollen Ergebnis geführt hatten, wurde des Interesses halber mit dem gleichen Serum auch mit von den Untersuchungen STEINECKEs her noch vorhandenem Blau-Algen-Material reagiert. Auch diese Reaktionen hatten Erfolg. Daraus wurde zunächst geschlossen, dass in dem erhaltenen Immun-Serum ein Gemenge von *Azolla*- und von *Anabaena*-spezifischen Antikörpern vorlag.

Dies ist von bedeutendem theoretischem Interesse und zeigt, dass die einzelnen Eiweiss-Stoffe nicht Kombinationen der Immunstoffe liefern, sondern (wir werden weiter unten noch andere Vergleiche mit den durch die Erbschafts-Analyse aufgedeckten Erscheinungen zu ziehen haben) in ihren Wirkungen jeweils getrennt bleiben und aus dem mechanischen Gemenge für sich herausgeholt werden können.

Natürlich ist dies dann nicht der Fall, wenn wir mit *Azolla*-Serum auf *Azolla* selbst reagieren: unter diesen Umständen bleibt ein scheinbar einheitlicher Reaktions-Bereich vorliegend, da ja dem Immunkörper-Gemenge seine beiden spezifischen Antigene zur Reaktion geliefert werden. - Anders dagegen verhält es sich bei Verwandtschafts-Reaktionen, welche mit reinem Material angestellt werden können.

Die mit dem *Azolla*-Immunserum erhaltenen Reaktionen waren die folgenden:

(KONRADI):

#### Præcipitation.

<i>Azolla</i>	1	1	1	1	1	1	1
<i>Aneimia</i>	3	3	2	1	1	1	-
<i>Trichomanes</i>	2	2	2	1	1	1	-
<i>Pilularia</i>	2	2	2	1	1	tr	-
<i>Nostoc</i>	1	1	tr	-	-	-	-
<i>Oscillaria</i>	2	-	-	-	-	-	-

#### Conglutination.

	20'	40'	60'	90'	120'	150'
<i>Azolla</i>	-	tr	1	1	1	1
	-	tr	1	1	1	1
	-	-	-	tr	1	1
	-	-	-	-	1	1

Conglutination cont.

Trichomanes	-	tr	tr	l	l	l	
	-	tr	tr	l	l	l	
	-	-	tr	l	l	l	
	-	-	-	l	l	l	
Ancimia	-	tr	tr	l	l	l	
	-	tr	tr	l	l	l	
	-	-	tr	tr	-	-	
	-	-	-	-	-	tr	
Pilularia	-	-	-	l	l	l	l
	-	-	-	-	tr	l	l
	-	-	-	-	-	l	l
	-	-	-	-	-	tr	tr
Nostoc	-	-	-	l	l	l	l
	-	-	-	-	tr	tr	tr
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-
Oscillaria	-	-	l	l	l	l	l
	-	-	-	l	l	l	l
	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-

Die beiden Methoden der Praecipitation und der Conglutination liefern also gut übereinstimmende Ergebnisse, aus welchen hervorgeht:

Die scheinbar einheitliche Kurve von *Asolla* mit sich selbst muss in zwei sich überlagernde Kurven aufgelöst werden, welche sich aus den reinen Verwandtschafts-Reaktionen ergeben. Von diesen Kurven ist die eine, zu den Cyanophyceen gehörende und zu *Anabaena* gehörige ganz kurz und steil; die andere, zu *Asolla* selbst gehörige dagegen länger gedehnt und insbesondere weniger steil.

Auf diese Ergebnisse hin wurden auch frühere Protokolle daraufhin durchgesehen, ob sich in ihnen gleichfalls Beweise für vorhandene Mehrgipfeligkeit von Reaktions-Kurven ergeben, welche dann, ebenso wie dies offenbar bei *Asolla* plus *Anabaena* vorliegt, gleichfalls auf verschiedene Eiweiss-Arten (aber von einer und derselben Pflanze stammend) gedeutet werden könnten.

Den Arbeiten von GUTTMANN (in Mez, Archiv VI 1924, p. 421 ff.) und STEINECKE (in Mez, Archiv X, 1925, p. 82 ff.) seien einige Reaktionen entnommen und hier besprochen. Wir heben hervor, dass beide Beobachter von den hier dargelegten Theorien völlig unbeeinflusst waren, weil diese Gedankengänge erst viel später bei uns auftauchten. - Für die Theorie der Serum-Reaktionen halten wir das im Königsberger Botanischen Institut erarbeitete Material gerade deshalb für besonders wertvoll, weil es absolut empirisch, ohne jede Theorie über das Zustandekommen resp. den Mechanismus der Reaktionen gewonnen wurde.

STEINECKE.

Nitella mit Chaetomorpha	2	1	1	tr	l	l				
Vaucheria mit Vaucheria	2	1	2	l						
Cladophora mit Scenedesmus	1	tr	1	-						
Riccia mit Marchantia	1	2	2	l	tr	tr	l	tr	tr	-
Riccia mit Microspora	3	2	1	tr	l	-	-			

## GUTTMANN.

Cycas mit Cycas	2	2	2	2	-	1	-	-
Marattia mit Marattia	3	3	2	3	2	2	1	1
Equisetum mit Selaginella	2	1	2	2	2	2	-	-
Sphagnum mit Sphagnum	2	1	2	2	2	2	2	1

Bevor wir eine Erklärung für dieselben darstellen, sei an Hand der Fig. 4 betrachtet, wie sich in einem besonders eindeutigen Fall das Steigen der Immunität auswirkt.

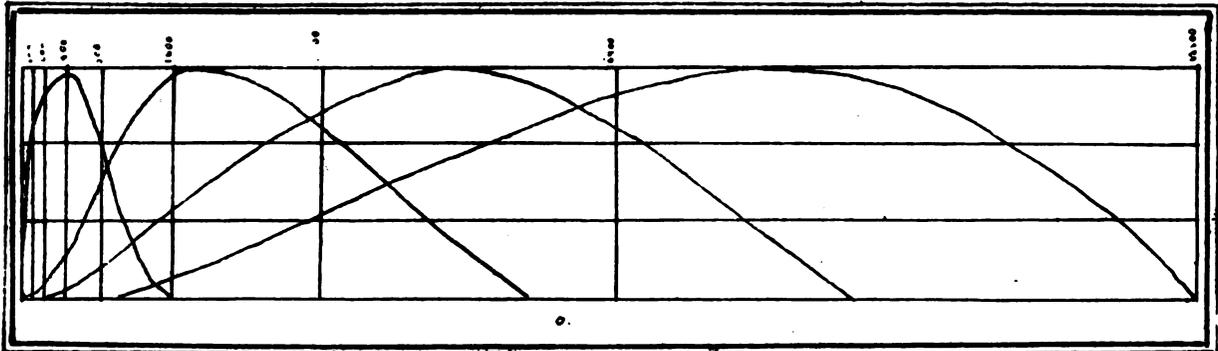


Fig. 4.

Zunächst haben wir (die erste Kurve) einen so steilen Anstieg, dass das Versagen der Anfangs-Reaktion nicht wahrnehmbar ist.

Beim Ansteigen der Immunität tritt ein Versagen der Anfangs-Reaktion (resp. der Anfangs-Reaktionen) ein, wie zu erwarten, rücken mit diesem Hinausschieben der Minima auch die Optima weiter hinaus: die ersten Gläser versagen immer mehr und der Kurven-Anstieg wird immer flacher.

Hieraus können wir folgende Sätze ableiten: Auf eine bestimmte Menge Antigen kommt eine bestimmte Menge Immunstoff. Eine grosse Menge Antigen verbraucht eine kleine Menge Immunstoff; eine kleine Menge Antigen verbraucht eine grosse Menge Immunstoff.

Von besonderem Interesse ist nun die Wirkung einer solchen ansteigenden Immunisations-Reihe auf ein zwar systematisch nahe stehendes, aber doch verschiedenes Antigen. Dies ist in Fig. 5 für 4 verschiedene Immunisations-Stärken und für zwei Antigene, ein näheres und ein ferneres, dargestellt.

Bei der niedrigsten Immunität sehen wir den steilen Anstieg der Reaktion des zugehörigen, und wenn auch bedeutend schwächer und kürzer, des näher stehenden Antigens (Fig. 5, I).

Beim Ansteigen der Immunität rückt die art-eigene Kurve unter Versagen am Anfang nach hinten; das nahe stehende Antigen hat bei gegen I. vergrösserter Reichweite den steilen Anstieg, welchen in I. das art-eigene Antigen gezeigt hatte; das fernere Antigen zeigt eine niedrige, steile und kurze Kurve (Fig. 5, II).

In Fig. 5, III. zeigen sich sowohl beim art-eigenen wie bei dem näher stehenden und dem ferner stehenden Antigen die Folgen der Ausbreitung der Kurve, wenn auch in verschiedenem Masse. So ist in den ersten Gläsern beim art-eigenen keine, beim art-näheren eine schwache Reaktion erkennbar. - Welche Erklärung man für das einmalige Ablenken des Komplements und das Fehlen der Erscheinung beim zweiten Antigen und doch gleichen Mengen, von Serum und Komplement vom EHRLICH'schen Standpunkt aus geben könnte, ist nicht einzusehen.

In Fig. 5, IV. wird dieser Vorgang noch deutlicher. Während das zur Immunisation gehörige Antigen erst im achten Glas eine Reaktion gibt, sind bei den ferner stehenden Antigenen die Reaktionen in den ersten Gläsern noch vorhanden.

Damit scheint uns eine Erklärung für die Reaktionen heterogener Eiweiss-Stoffe gegeben zu sein: die Immunität ist so hoch geworden, dass das Tier "überspritzt" ist, wie wir uns ausdrücken. Bei solchen Tieren geben die der Reaktions-Regel entsprechend angesetzten Gläser mit ihren steigenden Verdünnungen innerhalb der angewandten Reaktions-Spanne, wie sie sonst allgemein die Immunisations-Wirkungen umschliesst, keine Reaktion mehr. Werden dagegen (normal bei den Untersuchungen nicht mehr inbetracht gezogene) noch weitere Verdünnungen angesetzt, so tritt die Reaktion auf; sie ist also nur hinausgeschoben. - Mit solchen Seren ist es möglich, und erklärt sich aus unserer Ableitung, mit art-fremden Antigenen noch Reaktionen zu bekommen, wenn das art-eigene Antigen (innerhalb der normalen Reaktions-Spanne) keine Reaktion mehr gibt. - Dies erscheint uns sehr beachtenswert und bildet eine Erklärung für manche anscheinend grobe Unstimmigkeiten, welche aufgetreten sind und, durch mühevoll nachgeprüften, deshalb für die Beurteilung der Verwandtschafts-Verhältnisse als "fehlerhaft" ausgeschieden wurden, weil die Vergleichs-Untersuchungen (anscheinend) andere, mehr Zutrauen erweckende Resultate ergeben hatten. - Der Fehler lag in diesen Fällen nicht an der Serum-Reaktion, sondern an der geringen Achtsamkeit, mit welcher die (oft sehr plötzlich ansteigende) Immunisation mittels Probeblut-Abnahmen überwacht worden war!

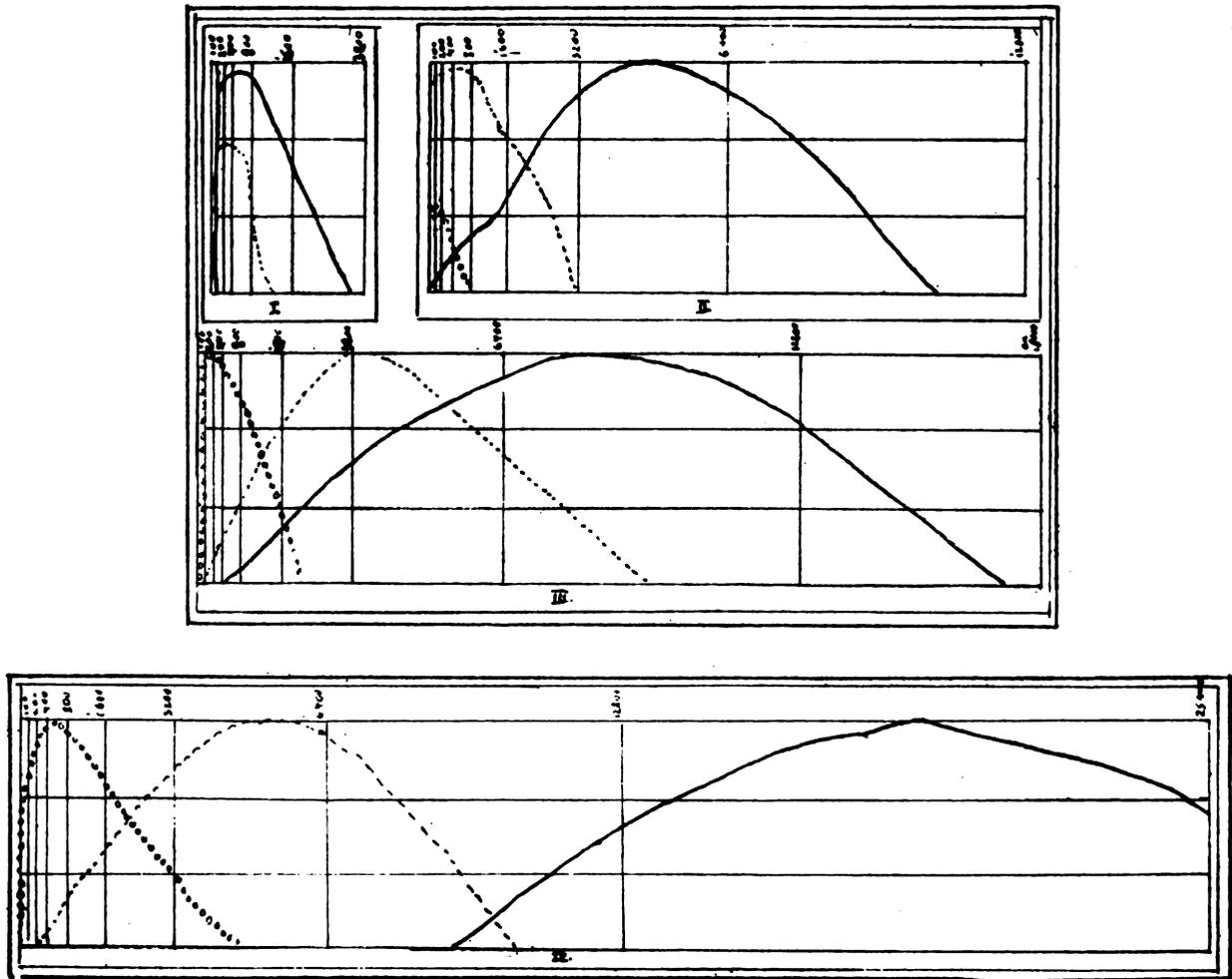
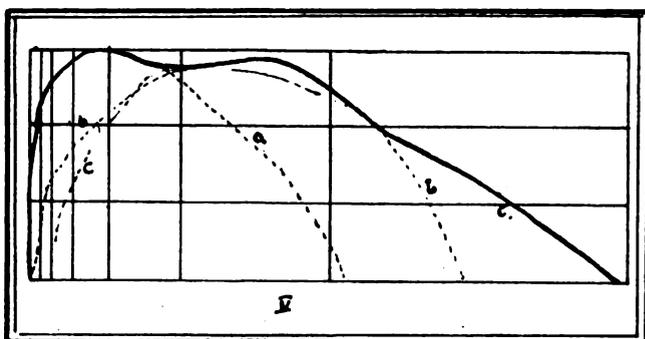
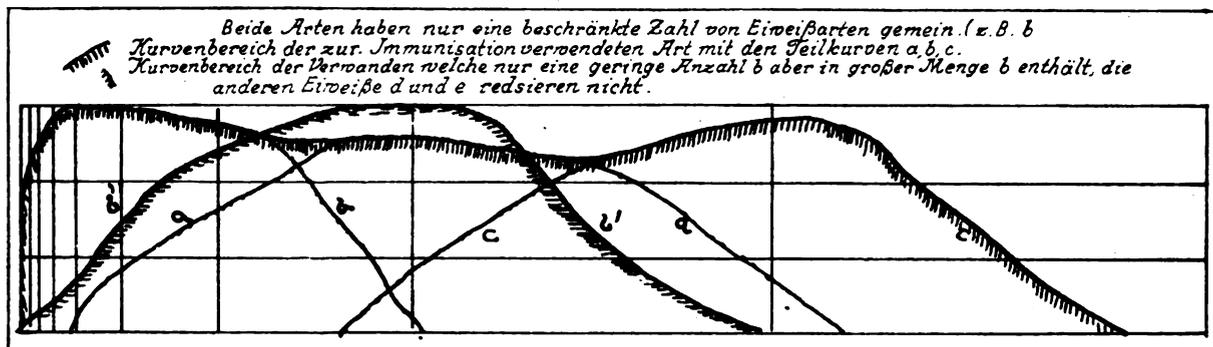
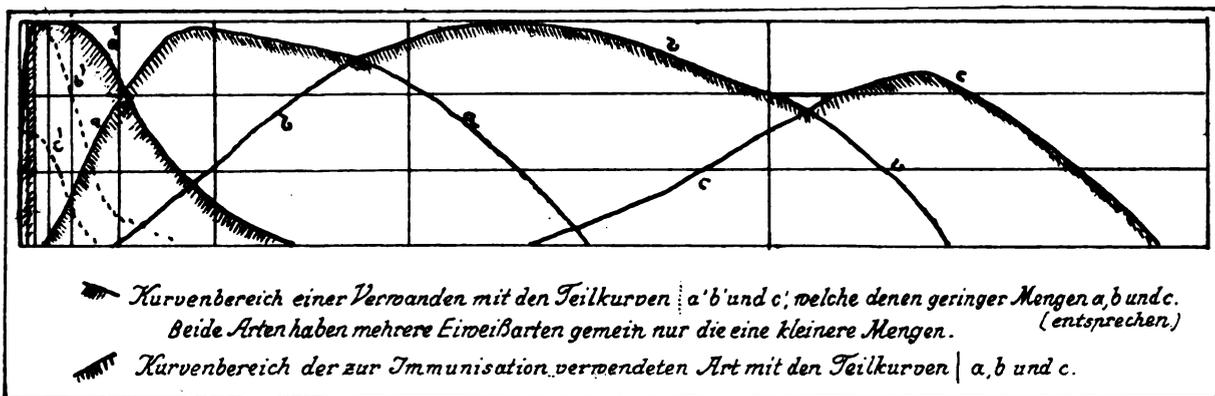


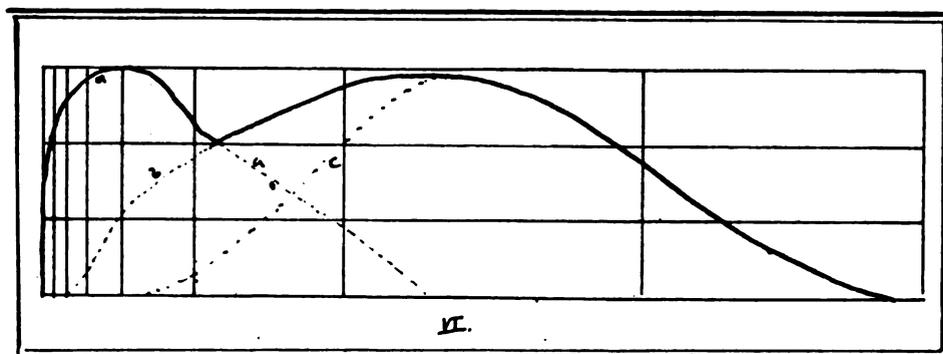
Fig. 5.

Veränderung der Eigenkurve ----- und der Kurve zweier Verwandter - - - -,ooooo beim Steigen der Immunität. I - IV.

Um mit unseren Ableitungen weiter zu kommen, wollen wir nun annehmen, wir hätten ein Tier mit einem Gemenge von Eiweiss-Stoffen immunisiert, von denen einer in



Zusammenwirken der Eiveiße a, b und c, unter Erzeugung einer eingipfeligen Kurve.



Zweigipfelige Kurve durch Zusammenwirken von den Eiveißen a, b und c.

Fig. 6.

grosser, der andere in kleiner Menge vorhanden gewesen sei.

Setzen wir nun unsere Reaktionen mit gleichen Mengen beider Antigene an, so erhalten wir von dem einen, in grosser Menge vorhandenen Eiweiss-Stoff eine Kurve, welche vorne versagt und ihr Optimum weiter hinten hat. Das andere, in geringerer Menge vorhandene Antigen hat eine steil ansteigende Kurve mit vorn gelegenen Optimum.

Die Figuren 6, V-VIII veranschaulichen die Verhältnisse für drei gleichzeitig eingespritzte verschiedene Antigene.

Sind die beiden Kurven-Optima weit voneinander entfernt, was bei grosser Differenz der angewandten Antigen-Mengen eintritt, so erhalten wir eine zweigipfelige Kurve (Fig. 6, VI). - Fallen, was bei nicht allzu verschiedener Antigen-Menge gewöhnlich ist, die beiden Optima nicht weit auseinander, so kann das Bild einer eingipfeligen Kurve vorgetäuscht werden (Fig. 6, V.).

Damit haben wir zunächst eine Erklärung für die oft beobachteten zwei- bis mehrgipfeligen Kurven in die Hand bekommen. Niemand wird behaupten wollen, dass ein als Antigen benützter Eiweiss-Stoff einheitlich sein müsse oder auch nur wahr-scheinlicher Weise einheitlich sein werde. Mag das als Antigen benützte Eiweiss auch aus demselben Organ einer und derselben Pflanze stammen, also für die Praxis der Sero-Diagnostik einheitlich sein (weil wir es in seine Konstituenten zu schei-den noch nicht gelernt haben), so besteht es doch stets aus einem unübersehbaren Gemenge verschiedener Eiweiss-Stoffe, welche (jedenfalls in quantitativer Hinsicht, vielleicht auch qualitativ) stark von einander abzuweichen scheinen. Ist, bei An-nahme von nur zweien (wie wir dies der Einfachheit wegen tun wollen), das eine Ei-weiss in sehr kleiner Menge vorhanden, das andere dagegen in sehr grosser, so er-zeugt das erste eine geringe Immunität, deren Kurve kurz ist, das andere dagegen eine hohe Immunität mit weiter Kurve.

Umgekehrt wird mit Sicherheit aus dem oft beobachteten Auftreten von mehrgip-feligen Kurven die Komplexität der als Antigene verwendeten Eiweiss-Stoffe er-schlossen.

#### ERKLÄRUNG DER VERWANDTSCHAFTS-REAKTIONEN.

Aber noch in anderer Hinsicht ist die hier gewonnene Erkenntnis von grosser theoretischer Wichtigkeit: sie scheint uns zum ersten mal eine Erklärungs-Möglich-keit für die Verwandtschafts-Reaktionen zu bieten und damit etwas mehr zu leisten, als das Bild von Schloss und Schlüssel zu geben vermag.

Je weiter entfernt sich zwei Arten stehen, desto weniger Eiweiss-Stoffe haben sie gemeinsam. Wenn die zur Immunisation dienende Art nur eine geringe Menge ei-nes Eiweiss-Stoffes enthalten hat, der für eine andere fernstehende Art den sero-logischen Anschluss vermittelt, so kann durch sie auch nur eine geringe Menge von Immunstoff erzeugt werden. Dieser reagiert nur mit grossen Mengen des fremden Ei-weiss-Stoffes, also nur in den ersten Gläsern mit den starken Fremd-Extrakten.

Hat der fremde Formenkreis viele Eiweiss-Stoffe mit dem zur Immunisation ver-wendeten gemeinsam, ist aber zugleich deren Menge nur gering, so wird die Kurve, wie in Fig. 6, VII - VIII gezeichnet ist, kurz sein. - Sind die gemeinsamen Ei-weiss-Stoffe zwar zahlreich, aber in der fremden Art in nahezu gleichen Mengen vorhanden, so wird man eine sehr flache aber weit nach hinten reichende Kurve er-halten. - Es ist daher nicht zu verwundern, dass das Versagen der ersten Gläser besonders bei Reaktionen nach fernstehenden Formen hin auftritt.

Des weiteren ist die Art der Kurve auch in gewisser Hinsicht ein Anzeichen für das gegenseitige Mengen-Verhältnis der differenten Eiweiss-Stoffe in der zur Immunisation verwendeten Form selbst. Wo eine Kurve mit breitem Optimum auftritt, da sind die Eiweiss-Stoffe in allmählig abfallenden Mengen vorhanden. Wo die Kur-ve dagegen flach verläuft, sind sie in annähernd gleicher Menge anwesend - Bei den mehrgipfeligen Kurven sind eine Anzahl von Eiweiss-Stoffen in grösserer und andere in kleinerer Menge vorhanden.

Auf diese Weise können wir, wenn vor der Hand auch nur schätzungs- und andeu-tungsweise, vielleicht einen Einblick in die Mengenverhältnisse der Antigene, al-

so der differenten Eiweiss-Stoffe, in jeder Pflanzenfamilie tun.

PARALLELEN MIT DEN BEI DER VERERBUNGS-FORSCHUNG  
FESTGESTELLTEN TATSACHEN.

Nehmen wir nun mit der jetzt fast allgemein gewordenen Überzeugung der Vererbungs-Forscher an, dass die Vererbung auf der Substanz der Zellkerne, besonders auf deren Chromatin, als Träger begründet ist. Nun ist aus unserer serologischen Praxis festzustellen, dass wir seit vielen Jahren schon mit Extrakten mittels Natronlauge bei unsern Immunisationen mit Erfolg arbeiten. Die Natronlauge-Auszüge bewirken also Immunisation; in ihnen sind besonders auch die Nucleo-Proteide löslich, welche ja die Substanz der Chromosomen ausmachen dürften.

Wie wir eben dargelegt haben, konnten wir für jede Pflanze eine Mehrzahl, vielleicht eine Vielzahl von Antigenen, also von verschiedenen serologisch nachweisbaren Eiweiss-Stoffen wahrscheinlich machen.

Immer wieder haben wir mit Nachdruck betont, dass die Differenz der biologischen Formen auf der Differenz der Eiweiss-Stoffe beruhe, also eine chemische Grundlage habe. Nun kann vielleicht in vor der Hand noch durchaus hypothetischer aber immerhin der weiteren Forschung zugänglicher Weise diese chemische spezifische Differenz, welche sich bei der Vererbung kund tut, in der Weise präzisiert werden, dass sie wesentlich auf der Verschiedenheit von Nucleo-Proteinen beruht. Inwieweit diese Anschauungen die Vererbungslehre zu berühren vermögen, sei zunächst dahingestellt; jedenfalls gewinnen durch die serologisch festgestellten Tatsachen die Ansichten von der stofflichen Grundlage der Vererbung und der Zusammengesetztheit des Idioplasmas eine neue chemisch in Angriff nehmbar Seite und eine über das Morphologische hinausgehende Vertiefung.

Die Erfahrungen der Koppelungs-Erscheinungen und ihre Erklärung durch MORGAN<sup>1)</sup> fordern eine stoffliche, nicht nur strukturelle Verschiedenheit der Zonen der Chromosomen. Auch die polymeren Faktoren erscheinen nun in einem andern, aber nicht minder interessanten Licht. Es ist sehr wohl möglich, dass es sich in manchen Fällen nur um Massen-Unterschiede desselben Eiweiss-Stoffes handelt, wie z.B. bei den 6 Rot-Faktoren der von NILSON-EHLE aufgeklärten rotfrüchtigen Weizen-Rassen<sup>2)</sup>. Aber Erscheinungen wie letale Faktoren, unfruchtbare Bastarde etc. könnte man zwanglos auch durch Störungen kolloidaler Natur erklären; uns erscheint dies sogar wahrscheinlicher.

Überartige hypothetische Gedankengänge weiter auszuspinnen, hat hier keinen Zweck; wir wollten nur hervorheben, dass wir sehr wohl eine Synthese der stofflichen Ansichten von KLEBS<sup>3)</sup> mit der Chromosomen-Lehre für möglich halten. Auch die chemischen Verbindungen haben ihre Geschichte<sup>4)</sup>.

Führen wir aber derartige kolloid-chemische Betrachtungsweisen in die Vererbungslehre ein, so ist offenbar auch eine Beeinflussung der vom Zellkern getragenen und überlieferten Eigenschaften durch das Plasma möglich. Die Frage der "reziproken Bastarde" taucht hier auf und damit ein möglicher Unterschied zwischen direkter und indirekter Vererbung<sup>5)</sup>, wobei die direkte Vererbung wohl durch das Idioplasma des Kerns bedingt ist, die indirekte aber durch das Milieu, das Plasma, in welchem sich der Kern befindet.

1) MORGAN, 1922, Die stoffliche Grundlage der Vererbung, deutsch von NACHTSHEIM, Berlin.

2) E. BAUR, Einführung in die experimentelle Vererbungslehre, 1921, Berlin;  
SCHMIDT, Einführung in die Vererbungswissenschaft, 1920, Berlin.  
Bei beiden weitere Literatur.

3) KLEBS, 1905, in Pringheims Jahrbuch XLII, 293.

4) ROSEN, 1925, in Cohn's Beitr. XIV, Heft 2.

5) ZIEGENSPECK, 1925, in Mez, Echo I, p. 17.

### ÜBER DEN SERO-DIAGNOSTISCHEN STAMMBAUM.

Um die Sache zusammenzufassen, wollen wir unsere Ansicht kurz folgendermassen darstellen: Das Idioplasma jedes Lebewesens setzt sich aus einer grossen Anzahl verschiedener Eiweiss-Stoffe zusammen. Es dürfte sich wohl um Nucleo-Proteine handeln. Das Mengenverhältnis sowohl wie der chemische Aufbau derselben ist für jede Art, Gattung, Familie und Ordnung verschieden aber charakteristisch. Je mehr gemeinsame Eiweiss-Stoffe die einzelnen Formen haben, umso näher stehen sie sich auch morphologisch. Wird nun ein Tier mit einer Pflanze immunisiert, so wirken die in grösster Anzahl vorhandenen Antigene am energischsten auf das Versuchstier ein und erzeugen die wirksamsten Immunkörper in grösster Zahl. Die daneben in nur geringer Anzahl vorhandenen Antigene erzeugen nur eine geringe Immunität. Reagieren wir nun mit einem nahe stehenden Formenkreis, so werden die in grosser Zahl vorhandenen Antigene eine Reaktion gerade in hohen Verdünnungen hervorrufen, das Serum wird also weit wirken. Reagieren wir mit einem Formenkreis, welcher ferner steht, so enthält dieser seinerseits diejenigen Antigene, für welche Immunkörper in grosser Zahl im Serum vorhanden sind, nur in kleiner Anzahl. Es können also in diesem Fall nur die ersten Gläser das Minimum der Wirkung überschreiten.

Die in der fernstehenden Form aber in grosser Zahl vorhandenen Stoffe sind in der zur Immunisation verwendeten, der Ausgangsform der Reaktion, nur in geringerer Anzahl vorhanden. Daher ist im Serum nur eine geringe Menge von aus ihnen entstandenen Immunkörpern vorhanden; diese können, wie oben gezeigt wurde, nur bei grosser Konzentration des Antigens, also gleichfalls nur in den ersten Gläsern, zur Reaktion führen.

Haben wir also mit einem fremden Eiweiss reagiert, so darf keine völlige "Ab-sättigung" eingetreten sein, sondern das Filtrat muss immerhin noch geeignet sein zur Reaktion mit der eigenen, zur Immunisation verwendeten Art. Dies ist auch tatsächlich der Fall. Aber bei diesen Reaktionen darf ein später noch zu behandelnder Umstand nicht ausser Acht gelassen werden.

Unter allen Umständen ist diese Tatsache, dass nach dem Abfiltrieren der mit artfremden Eiweiss-Stoffen erzielten Niederschläge noch Art-eigene Reaktionen erzielt werden können, ein Beweis für die Annahme, dass die Immunisations-Stoffe, unserer Anschauung nach das Idioplasma, komplexer Natur sind, aus verschiedenen Stoffen in wechselnden, aber für die Einzelformen charakteristischen Mengen bestehen.

Mit grosser Zurückhaltung glauben wir hier eine Beobachtung besprechen zu müssen, welche wir dem grossen Schatz der in unserm Institut gewonnenen Erfahrungen auf dem Gebiet der Verwandtschafts-Reaktionen entnehmen zu dürfen glauben:

Es macht den Eindruck, als ob mit Pflanzenformen, welche am Grund unseres Stammbaums oder an den Verzweigungsstellen desselben stehen, leicht hohe Immunisationen erzielt werden können. Dagegen scheint es viel schwerer zu sein, dieselben hohen Immunisations-Titres zu erzielen mit Pflanzen, die an den Gipfeln von Seitenästen stehen.

Wenn diese Beobachtungen richtig sind, könnte aus ihnen geschlossen werden, dass bei den erstbezeichneten Pflanzen gewisse Antigene in übergrosser Masse vorhanden sind, während im zweiten Fall sehr vielerlei Eiweiss-Stoffe, aber in geringerer Menge, vorliegen könnten.

Hier könnte eine Brücke zu der Beobachtung <sup>1)</sup> geschlagen werden, dass, im Gegensatz zu den primitiven oder relativ primitiven Formenkreisen bei den auf den Seitenästen des serologischen Stammbaums (besonders an den Enden der Seitenäste) lokalisierten Typen eine weitgehende morphologische Differenziation vorliegt. Man ist versucht, den Vergleich mit einem bis ins Kleinste auf einen Spezial-Artikel eingestellten Fabrikations-Betrieb zu ziehen, der ungemein kompliziert organisiert ist. Wenn ein solcher Betrieb unter veränderten Bedingungen arbeiten soll, so kann er sich nur schwer oder garnicht mehr umstellen. - Ebenso hält es schwer,

1) Vergl. ZIEGENSPECK, Serologischer Stammbaum und Phytopaläontologie, in Mez Archiv IX (1925).

bei Gegenwart einer Vielheit unter sich sehr verschiedener formbestimmender Stoffe aus ihnen einen gemeinsamen Typ herzustellen. Solche über-spezialisierte Typen sterben bei Änderung der Lebensbedingungen zumeist aus, während einfacher organisierte sich viel leichter "umstellen", und aus ihrem gleichmässigeren Idioplasma leichter zu neuen "Eigenschaftsstoffen" gelangen können.

Dieser Gedankengang sei an einem aus der Fülle unseres Reaktions-Materials willkürlich ausgewählten Zahlen-Beispiels erläutert: Auf 100 Teile Antigen soll *Riccia* 90 Teile Gesamt-Idioplasma enthalten; davon müssen dann *Marchantia* und *Psilotum* etwa 80 Teile führen; die thallose Lebermoose haben nurmehr 70, die frondösen nurmehr 30 Teile davon; *Selaginella* hat davon gleichfalls noch 70, *Araucaria* und *Pinus* noch 30, *Podocarpus* und *Magnolia* nurmehr 10, *Reseda* noch 7 Teile; bis ganz herauf haben sich noch 4 Teile erhalten.- Diese Zahlen stellen reine Schätzungen dar; nach den tatsächlich gefallenen Reaktionen werden sie ungefähr richtig sein.

Nun haben wir von jeher die Forderung der Reziprozität der Serum-Reaktionen erhoben <sup>1)</sup>. Wenn ein Formenkreis mit einem andern Reaktion gibt, so muss notwendiger Weise auch dieser andere mit dem ersten wieder zur Reaktion gebracht werden können. Nur wird (nach unserer hier angestellten Überlegung) in der Leichtigkeit, mit welcher die genügenden Immunisationen, die zum Nachweis der Reziprozität notwendig sind, eintreten, offenbar ein Unterschied bestehen. Es liegt auf der Hand, dass es 26-mal leichter sein muss, ein Tier mit *Riccia* derart zu immunisieren, dass es das Ende des Stammbaums, also z.B. eine Composite, erreicht, als umgekehrt. Diese Erwägungen sind nicht nur für die Praxis der Serum-Reaktionen für den jeweiligen Beweis ihrer Richtigkeit von Bedeutung, sondern sie haben auch rein theoretisches Interesse. Für die Praxis der Serologie bedeuten sie unter andern, dass es leichter sein wird, Reaktionen von unten herauf, als solche von oben herunter zu erhalten; dass die Reaktionen von oben herunter bei gleicher Zahl der dem Versuchstier gegebenen Einspritzungen weniger weit reichen, also mehr spezifisch sein werden, als die Reaktionen von unten herauf. Wir haben früher <sup>2)</sup> ausgesprochen, dass es für die Begründung unserer systematischen Methode ein glücklicher Zufall war, dass mit weit abgeleiteten, an den Enden von Stammbaum-Ästen stehenden Formenkreisen die Untersuchungen begonnen wurden, weil wir bei der dort herrschenden relativ geringen Reaktions-Spanne (nach abwärts) zu einer bedeutenden Sicherheit bezüglich der Richtigkeit und Brauchbarkeit unserer Ergebnisse kommen konnten. Unsere hier rein theoretisch aufgestellten Betrachtungen sind die Begründung für das empirisch gefundene Faktum.

Ferner kann wohl folgende Überlegung hier angeknüpft werden: von dem in unserm oben angeführten Beispiel vorhandenen *Riccia*-Idioplasma habe *Magnolia*, *Podocarpus* nurmehr noch den zehnten Teil. Nun ist es wohl denkbar, dass von den 80 nicht mehr *Riccia*-spezifischen Teilen *Magnolia* 70 Teile in einen gleichen, *Magnolia*-spezifischen Stoff umgewandelt hat, *Podocarpus* dagegen kann aus diesen übrig bleibenden 70 Teilen vielleicht 30 verschiedene Eiweiss-Stoffe geformt haben, die jeweils, im Vergleich zu den 70 *Magnolia*-spezifischen, nur in geringen Mengen vorhanden sind.

Nun hat sich bei unsern Reaktionen ergeben, dass wir vielleicht die Regel aufstellen können: die an den Kreuzungspunkten des serologischen Stammbaums stehenden Formenkreise ergeben bei der Immunisation flachere, zugleich nach unsern obigen Darstellungen weiter reichende Kurven als die an den Enden lokalisierten Formenkreise. Dies würde darauf deuten, dass bei den die Kreuzungs-Stellen darstellenden Familien eine relativ grosse Menge von gleichen Eiweiss-Stoffen vorhanden sind, bei den abgeleiteten dagegen eine grössere Spezialisierung der Eiweiss-Stoffe vorliegt. Belege für solche Anschauungen würden die nicht kongruenten reziproken Kurven von *Cucurbita* zu *Diospyros* und umgekehrt sowie von *Elaeocarpus* zu *Erythroxylon* und umgekehrt bieten. Doch sei betont, dass wir diese Dinge nur mit allergrösster Reserve hier vorbringen und noch viele weitere Bestätigungen abwarten müssen, bevor wir wirklich von einer vorliegenden Regel sprechen können.

1) MEZ und GOHLKE in Cohn's Beitr. XII.

2) MEZ in Abderhalden, Handbuch, XI, 1.

## DIE SERUM-REAKTIONEN ALS KOLLOID-CHEMISCHE REAKTIONEN.

Unsere bisherigen Ausführungen haben oben eine Begründung von kolloid-chemischen Anschauungen über die Serum-Reaktionen gebracht; theoretische Ausblicke wurden angeschlossen. Nun liegt es uns ob, uns nach Erfahrungen in der Literatur umzusehen, welche diese kolloid-chemischen Hypothesen bekräftigen oder bekämpfen könnten.

Zunächst möge hervorgehoben werden, dass bei den serologischen Erscheinungen offenbar sehr lockere Bindungen vorliegen, welche keinen streng stöchiometrischen Gesetzen folgen, sondern stark von Massenwirkungen abhängen. Darauf haben insbesondere ARRHENIUS und MADSEN hingewiesen und sehr beachtenswerte Parallelen zur Bindung einer mittelstarken Base durch eine mehrwertige Säure gezogen. Sie haben die serologischen Reaktionen mit der Absättigung von Ammoniak mit Borsäure verglichen. - Obgleich diese Gedankengänge tatsächlich eine Menge von Ähnlichkeiten beider Prozesse aufweisen, ist das verwendete Bild trotzdem viel zu einfach.

Die colloidalen Reaktionen sind zwar ähnlich geartet wie die angezogene Bindung Ammoniak - Borsäure, aber sie zeigen ihrerseits dazukommend noch eine Menge von Eigentümlichkeiten, welche sie mit den serologischen Reaktionen gemeinsam haben, die aber in keiner Weise zu dem verglichenen einfachen Bild passen. Die von ARRHENIUS-MADSEN dargestellten Verhältnisse sind ein enger Teil dessen, was bei den Serum-Reaktionen entgegentritt. Sind wir uns dessen bewusst, so können wir alle Erfahrungen dieser beiden Forscher in das Bild unserer Auffassung übernehmen. Sie passen aber ebenso wenig zu den Theoremen der EHRLICHschen Seitenketten-Theorie wie unsere eigenen Anschauungen.

Für unsere weiteren Darlegungen eignet sich als Ausgangspunkt am besten die Bindung der Toxine und Antitoxine, schon deshalb, weil hier ausserhalb des Tierkörpers im Reagenzglas beobachtbare Verhältnisse vorliegen; es sei vor allem an die Sprengung derselben erinnert, welche im Tierkörper ebenso wie im Reagenzglas zu verlaufen scheint.

Hierfür einige Beispiele: Bringt man ein für Meerschweinchen abgestimmtes Gemenge von Diphtherie-Toxin und Antitoxin in deren Blutbahn, so tritt keine Giftwirkung ein. Dasselbe Gemenge aber dem Menschen injiziert, wirkt giftig. Dies ist ein Beweis dafür, dass es sich bei diesem Vorgang nicht um einfache Absättigungs-Vorgänge handelt, sondern dass das Medium einen gewichtigen Einfluss ausübt.

Die Bindung der beiden Körper braucht 24 Stunden bei 15 Grad, dagegen nur eine Stunde bei 40 Grad. - Wenn man das Antitoxin im richtigen Verhältnis auf einmal zugibt, so wirkt es viel energischer, als wenn es in zweimaliger Portion zur Hälfte angewendet wird.

EHRLICH umgeht diese Klippe durch die Annahme verschiedener Toxine. Nach ihm gibt es ein Toxon neben einem Toxoid und Toxin. Das Toxin binde sich schlechter. Aber nicht einmal das Toxin ist einheitlich: es setzt sich aus Prototoxin, Deuterotoxin und Tritoxin zusammen, deren Binefähigkeit in der Reihenfolge der Aufzählung fallen soll. Am schlechtesten soll sich das Toxon binden. - In das weniger giftige Toxoid gehen die Körper beim Abbau verschieden rasch über. Das Tritoxin soll sich am leichtesten verwandeln; dabei soll sich als Zwischenstufe das Hemitoxin bilden. Am schwersten umbildbar sei das Prototoxin, während das Deuterotoxin zwischen beiden stehe.

Es ist ein grosses Verdienst von ARRHENIUS und MADSEN, diesem immer weiter gehenden Turmbau immer neuer Toxine das Gesetz der Massenwirkung entgegengestellt zu haben. Denn auch das Toxin-Antitoxin-Gemenge zeigt frisch hergestellt oder verdünnt verschiedene Eigenschaften. Nur seine Beständigkeit beim Altern konnten sie nicht-erklären, doch bereitet auch diese der kolloid-chemischen Auffassung keine Schwierigkeiten.

ARRHENIUS und MADSEN heben mit Recht hervor, dass das Zusetzen verschiedener Mengen von Reagenz das Vorhandensein verschiedener Reaktions-Körper vortäuschen kann, während es sich dabei doch nur um Massenwirkungen handelt.

Borsäure in Menge 1	zugesetzt	neutralisiere	die Hälfte	des Ammoniaks;
dann bindet die Menge 2		=	2/3	" "
" " " " 3		=	3/4	" "
" " " " 4		=	4/5	" "

Hierzu einige Beispiele: Jequirity-Gift, im richtigen Verhältnis mit seinem Antikörper gemischt, wirkt erst nach einiger Zeit auf die Bindehaut. Wenn man die beiden Körper, obgleich sie der Menge nach abgestimmt waren, derart auf die Bindehaut einwirken lässt, dass zuerst das Serum und dann das Toxin zur Anwendung kommt, so treten trotzdem Giftwirkungen auf. - Wenn man die Resorption des Serums durch Zugabe von Adrenalin verhindert, so kommt die Toxin-Wirkung allein im Tierversuch zur Wirkung; dies ist ein Zeichen dafür, dass die gegenseitige Bindung Toxin - Antitoxin nur nach dem Massenwirkungs-Gesetz statthatte und ungemein leicht sprengbar ist.

Filtriert man Mischungen von Schlangengift und Antitoxin durch Filter, welche das Antitoxin zurückhalten, so kann man unmittelbar nach dem Mischen noch Giftwirkungen erzielen, später dagegen nicht mehr. Da das Antitoxin geringere Hitze-Beständigkeit hat, so kann man die Bindefestigkeit auch durch Erwärmen auf 80 Grad, wobei dieses unwirksam wird, genau wie durch Filtration feststellen. - In dünnen Konzentrationen erfolgt eine langsamere Entgiftung des Schlangengiftes als in stärkeren. In schwächeren Konzentrationen ist die Möglichkeit des Zusammentretens von Teilchen geringer.

Oben wurde von dem kolloidalen System Ton ausgegangen. Seine einfache Betrachtung zeigt, dass bei Kolloiden die Bindungen nicht fest sind, sondern durch Schutzkolloide gelöst werden können. Die frisch gefällten Hydrosole sind dabei immer leichter löslich als ältere Gele. Dafür ist unter anderem das Ferrihydroxyd-Gel ein wohl bekanntes und in der Technik der Darstellung mancher Eisen-Präparate sogar verwertetes Beispiel. Um z.B. Eisensaccharat und Eisenpeptonat herzustellen, muss man frisch gefälltes Ferrihydroxyd-Gel verwenden.

Werden die Hydrosole aus den Lösungen gefällt, so tritt eine allmähliche Vergrößerung ihrer Teile ein; im Anfang kann man sie leicht lösen, später dagegen schwer oder garnicht mehr. Bei der gegenseitigen Bindung walten keine streng stöchiometrischen Verhältnisse; diese liegen aber innerhalb gewisser Grenzen. In einer durch Rohrzucker isotonisch gemachten Lösung kann keine Hämolyse auftreten. Wie auf die Quellungs- und peptischen Vorgänge haben die Ionen einen starken Einfluss.

Auf die optimale Wirkungsbreite eines Serums ist wahrscheinlich die Erfahrung mit gewissen Antigenen zurückzuführen, welche bei der WASSERMANNschen Reaktion zwar auf das Syphilis-Serum wirkungslos sind, jedoch auf normales Serum einwirken.

Auch für unsere Auffassung der Zusammengesetztheit der Immunkörper wie der Antigene gibt es eine Reihe von Angaben in der Literatur. Wir haben oben von den vielen durch EHRLICH geforderten Toxin-Abarten gesprochen. Vielleicht steckt in diesen Anschauungen doch ein wahrer Kern. Mit dem Schlangengift kann man verschiedene Wirkungen erzielen. In ihm vorhanden sind Hämolyzin, Cytolysin, die Blutgerinnung verhindernde Substanzen, ferner thermostabile Neurotoxine und thermolabile Hämorrhagine. Das Neurotoxin wirkt auf die Zentral-Nervensubstanz, das Hämorrhagin zerstört das Blut und die Epithelien. - Ebenso uneinheitlich ist das Antitoxin.

Ähnlich zusammengesetzt sollen die Präzipitine nach v. DUNGERN, das Tetanus- und Diphtherie-Toxin nach v. DUNGERN und SACHS und die Agglutinine nach JOES sein. Über diese Dinge kann man sich aus der medizinischen Literatur unterrichten. Sie stimmen gut überein mit dem, was wir eben über die Komplexheit der pflanzlichen Antigene und deren Analyse durch die Kurven-Verläufe auseinandergesetzt haben.

#### DIE ENTSTEHUNG DER IMMUNKÖRPER.

Es ist selbstverständlich, dass wir uns schon früh Gedanken über die Entste-

hung der Immunkörper im Blut gemacht haben <sup>1)</sup>. Da bei unsern Antigenen in ihrer übergrossen Vielzahl mit den regelmässig ihnen entsprechenden spezifischen Immunkörpern ein ungeheures Erfahrungsmaterial vorlag, welches das der Mediziner mit ihren wenigen untersuchten Krankheits-Erregern weit übertrifft, konnten wir uns von Anfang an des Eindrucks nicht erwehren, dass die Anschauungen BUCHNERS über die Entstehung der Immunkörper durch Abbau der Antigene im Blut zu Recht bestehen. Nachstehend geben wir einige Gedankengänge zu diesem Kapitel. Da dererlei Dinge aber ausserhalb des Rahmens unserer Forschung liegen, so wurden sie nicht weiter verfolgt und seien hiermit berufeneren Stellen unterbreitet.

Die Literatur über die WASSERMANNsche Syphilis-Reaktion enthält verschiedene Angaben, welcher unserer Meinung nach geeignet sind, einiges Licht auf die Entstehung dieser Körper zu werfen. - Für die Nicht-Mediziner, denen diese Reaktion und ihre theoretischen Grundlagen nicht unmittelbar geläufig sind, möge eine ganz kurze Charakteristik folgen.

Das Prinzip der WASSERMANN-Reaktion ist der Bedarf einer bestimmten, in jedem Falle wechselnden Menge von Komplement zu jeder Reaktion, ob sie nun in Hämolyse bestehe oder anders geartet sei. Dieses Komplement wird durch die Reaktion verbraucht. Lässt man nun auf eine bestimmte Menge Komplement, das eine Hämolyse gerade hervorrufen kann, ein anderes auf Immunkörper zu prüfendes Gemenge von zu untersuchendem Serum und Antigen, deren "flüchtige" Komplemente durch Erwärmen beseitigt oder zerstört wurden, einwirken, noch bevor die Hämolyse eingesetzt hat, so wurde bei Eintreten der Reaktion das Komplement schon ganz oder doch teilweise verbraucht und die Hämolyse findet nicht genug Komplement. Deshalb kann sie gar nicht oder nur unvollständig erfolgen. Dies erkennt man am Absetzen von ungelösten Blutkörperchen in den Gläsern.

Als Antigen hat man zunächst nur Auszüge mit physiologischer Kochsalzlösung aus syphilitischen Organen verwendet. Aber mit alkoholischen Auszügen geht die Reaktion gerade so gut. Daraus folgt, dass es sich bei der WASSERMANN-Reaktion gar nicht um Eiweiss-Körper, sondern vielmehr um "Lipoidkörper" handelt.

Bald stellte sich ferner heraus, dass man auch Extrakte von nicht luetischen Organen anwenden kann; nur wirken diese meist erst in stärkerer Konzentration.

Endlich fand man, dass sich auch die "künstlichen Antigene", wie Lecithin und oleinsaures Natron zur Verwendung eignen. Wir möchten hier ganz besonders hervorheben, dass das ölsäure Natron, wie alle aus pflanzlichen Ölen dargestellten Stoffe, Phytolipide, also Phytosterin etc enthält.

Nach diesen Erwägungen möchten wir die WASSERMANNsche Syphilis-Reaktion als eine unter Komplementbindung verlaufende Reaktion auf Lipide bezeichnen.

Es ist den Medizinern bekannt, dass man bei der WASSERMANN-Reaktion einen spezifischen Teil, für welchen die bei Lues auftretenden Lipide massgebend sein sollen, und einen nicht spezifischen Teil, welcher mit jedem Lipoid eintreten soll, unterscheidet. Die Ausflockung der Lipide durch Globulin des Serums soll bei genauem Austitrieren keine der Komplement-Verankerung parallele Reihe geben. Da aber die serologischen Reaktionen mehr oder minder Kolloid-Reaktionen sind, so ist mit dieser Tatsache nicht allzu viel anzufangen. Mit SEELIGMANN sind wir der Meinung, dass in einem Fall spezifische, im andern nicht spezifische Komplement-Bindung vorliegen kann. Ein Schutzkolloid muss nicht in allen Fällen die gleichen Kurven zeigen.

Den spezifischen Teil der WASSERMANNschen Reaktion könnte man daher als eine kolloid-chemische Reaktion bestimmter Immunkörper auf bestimmte menschliche Lipide unter Adsorption von auf Hämolyse als Schutzkolloid wirkendem Komplement betrachten. Diese Immunkörper sind auf die, sagen wir bei "fettiger" Degeneration infolge von Lues aus den Organen in grosser Menge erscheinenden Lipide des Menschen eingestimmt. Sie sind vornehmlich bei Lues in bestimmten Stadien vorhanden, können aber auch bei anderen Erkrankungen (Lepra, Malaria, Scharlach) in bestimm-

1) MEZ in Mez, Archiv I (1922), p. 177 - 78, hier wird auch von den Immunkörpern als von den im Blut entstehenden "Verdauungs-Produkten" der Antigene gesprochen. Damit sind die hier vorgetragenen Anschauungen bereits angedeutet.

ten Stadien oder immer auftreten. Durch die spezifischen Lipide wird die Reaktion am intensivsten hervorgerufen, durch die nicht spezifischen nicht so stark. Auch scheint die Komplement-Verankerung verschieden zu sein. Dabei möge dahingestellt sein, ob die künstlichen Antigene weniger Lipoid enthalten und die anderen Stoffe auf das System einen fallenden oder schützenden Einfluss ausüben, oder ob diese Stoffe an sich einen anders gearteten Einfluss auf Immunkörper und Komplement ausüben.

Für uns ist das Wesentliche, dass diese Immunkörper bei bestimmten Krankheiten immer oder nur in bestimmten Phasen in hervorragender Masse auftreten. Da aber im normalen menschlichen Körper ständig Zellen zerfallen und dadurch, wenn auch nur in geringen Mengen, diese spezifischen Lipide erzeugt werden, so ist die Eignung auch normaler Organe als Antigene erklärlich. Andererseits müssen sich diese Antikörper auch im normalen Blut vorfinden. Das beweisen die überstarken Antigene aus luetischen Organen, welche mit syphilitischen Seren nicht, dagegen mit normalen Seren gut reagieren. Es wurde ja oben darauf hingewiesen, dass grosse Mengen Antigen nur geringe Mengen von Immunkörpern brauchen.

Andererseits müsste es, wenn diese Gedankengänge richtig sind, möglich sein, durch bestimmte Manipulationen das normale Serum mit Immunkörpern anzureichern. Dies ist FRIEDMANN tatsächlich dadurch geglückt, dass er normalen Seren die aus ihnen gleichen Seren gefällten Globulin-Fraktionen zugab. Die nun an Immunkörpern reicheren Seren ergaben die WASSERMANNsche Reaktion.

Nach alledem handelt es sich bei der WASSERMANNschen Reaktion um eine Vermehrung der in jedem Serum vorhandenen Komplement-Bindung bei Auftreten bestimmter Krankheiten, vor allem von Lues, wenn es auf gewisse, ebenfalls bei dieser Krankheit besonders vermehrte Inhaltsstoffe des Gewebes einwirkt.

Viel wesentlicher für die Auffassung von der Entstehung der Immunkörper erscheinen uns Versuche von BRINK und STERN: Digeriert man ein normales Organ mit normalem Serum, so kann das normale Serum positiv auf die WASSERMANNsche Reaktion einwirken.

Hierfür scheinen uns drei Erklärungs-Möglichkeiten vorhanden: entweder, das Serum wird mit den Inhaltsstoffen derart angereichert, dass es die zur Erreichung der Schwelle dem Antigen der Versuchs-Anstellung noch fehlende Antigen-Menge erhält. - Oder aber: im normalen Serum kreisen Fermente, welche die Eigenschaft besitzen, absterbende oder abgestorbene Organe so abzubauen, dass die sich bildenden Abbau-Stoffe wie Immunkörper (oder sagen wir besser: als Immunkörper) unter Komplement-Bindung mit andern Stoffen dieser Organe und dem Antigen des Versuches reagieren. - Oder drittens: Die Abbau-Stoffe werden durch Autolyse von dem Organ geliefert und haben die Eigenschaft, unter Einwirkung des Serums auf Lipide, oder sagen wir vorsichtiger auf Inhaltsstoffe der Gewebe zu reagieren.

In unsern an zweiter und dritter Stelle aufgeführten Möglichkeiten haben die Abbau-Produkte die Eigenschaft erlangt, fermentativ die noch vorhandenen Inhaltsstoffe anzugreifen. Wenn aber die Antigen-Mengen bei der Versuchsanordnung steigen, so erfolgt Vergrößerung des Hydrosols oder auch Präzipitation unter Komplement-Bindung.

Um in diese Fragen etwas mehr Licht zu bekommen, müssen wir uns nach weiteren Tatsachen auf dem Gebiet der Serologie umsehen.

Wenn unsere Annahme zu Recht besteht, dass Eiweiss-abbauende Stoffe vom Serum geliefert werden, so müssen bei gewissen Zuständen oder Krankheiten abbauende Fermente im Organismus in erhöhtem Masse vorhanden sein.

Die Untersuchungen von ABDERHALDEN über die Abwehrfermente beweisen, dass dies der Fall ist. Wenn diese Fermente von manchen Praktikern als wegen ihrer Nicht-Spezifität zur Stellung von Diagnosen ungeeignet erachtet werden, so kann uns dies hier nicht stören. Eine völlige Spezifität wird sich bei der relativen Gleichheit im Organ-Aufbau ja auch kaum erwarten lassen; wir können nur eine Vermehrung der Ferment-Wirkung auf bestimmte Gewebe erwarten. Bei unseren Überlegungen handelt es sich nicht um die Verwendbarkeit der Spezifität zur Stellung von Diagnosen, sondern darum, dass die Fermente, und zwar nach einer bestimmten Richtung hin, überhaupt vermehrt werden. - Auf diese Dinge werden wir später noch

einmal zurückzukommen haben.

In einer grossen Zahl von Fällen ist sowohl die Anwesenheit dieser Fermente wie deren quantitative Spezifität im obigen Sinne sicher gestellt. - Für die mit diesen Dingen nicht vertrauten Naturwissenschaftler sei die **ABDERHALDENsche** Methode kurz umrissen:

Das Serum von Individuen in ungewohnten Zuständen oder Krankheiten besitzt die Eigenschaft, die diese Umstände bedingenden Fremdkörper gleicher Art (also Placentargewebe bei Schwangerschaft, Krebsgeschwülste) aufzulösen. Die Organe, welche die Reagentien darstellen, müssen durch Auskochen von allen löslichen Stoffen befreit sein. Dadurch werden sie auch getötet, ein besonders wichtiges Moment. Denn in lebendige Zellen dringen diese Fermente nicht ein; sie sind daher keine "Abwehrfermente" in des Wortes eigentlicher Bedeutung, sondern sie räumen im Körper mit den abgestorbenen Elementen auf. Diese Fermentwirkung wird dadurch erkannt, dass entweder das Serum durch Aufnahme optisch aktiver Abbau-Produkte seine Drehung der Polarisations-Ebene verändert hat, oder dass diese Stoffe dialysierbar sind und im Dialysat durch "Eiweiss-Reagentien" nachgewiesen werden (Ninhydrin).

Dass das ein Vorgehen ist, welches natürlich nicht Abbau-Produkte spezifischer Art allein erfasst, sondern nur Abbau-Produkte überhaupt, liegt auf der Hand.

Wenn wir ein Tier mit einem artfremden Eiweiss-Stoff immunisieren, so kann man erwarten, dass solche Fermente in besonders hohem Grade vorhanden sind. Aber auch im normalen Blut müssen sie, wenn auch in geringerer Menge, sich vorfinden, denn im Körper findet ja ständiger Zerfall von Zellen statt und diese werden nicht nur durch Fress-Zellen abgebaut. - Diese Fermente vermögen aber die lebenden Zellen nicht anzugreifen. Ob die Ursache dafür in Gegenstoffen besteht, oder ob diese "Alexine", wie wir sie in etwas weiterem Sinn mit **BUCHNER** nennen wollen, unfähig sind, in das lebendige Plasma einzudringen, ist eine Frage für sich und soll hier nicht behandelt werden. Auf jeden Fall räumen diese Fermente zusammen mit den Fress-Zellen unter den toten Elementen auf.

Diese normal nur in relativ geringer Menge vorhandenen Alexine treten auf Grund von Reizen in erhöhtem Masse auf. Wir werden das noch an Versuchen zu zeigen haben.

Dafür, dass die lebendigen Zellen im Körper nur sehr langsam und schwer abgebaut werden, gibt es eine Reihe von Belegen experimenteller Natur. Wir wollen hier nur kurz einige Beispiele von **ZIMMERMANN** anführen, welche die Unschädlichkeit der lebenden Zellen, solange sie eben noch nicht abgestorben sind, und die Giftigkeit derselben Zellen, sobald sie abgetötet wurden oder auch (siehe unten) des betreffenden Blut-Serums erweisen.

Injiziert man peritoneal Tauben-Erythrocyten, welche man durch Auswaschen in physiologischer Kochsalz-Lösung vom Serum, also von toten Eiweiss-Stoffen befreit hat so werden sie rasch aufgenommen und das Versuchstier zeigt auf die Injektion von z.B. 18 - 20 ccm keine Schädigung. - Nimmt man dagegen 16 ccm unausgewaschenes Blut für gleich schwere Tiere, so treten die stärksten Anzeichen einer "Ferment-Intoxication" auf: das Blut gerinnt in der Leibeshöhle und der nun erfolgende Abbau ruft die schwerste Erkrankung des Tieres hervor.

Noch nach Monaten waren im Froschblut die Blutkörperchen des Schafes nachzuweisen, die ohne Serum eingespritzt waren.

Nun seien einige eigene Versuche, die angeregt durch die Frage der Abwehr-Fermente angestellt wurden, hier aufgeführt:

Das völlig blanke und nicht hämolytische Serum eines Kaninchens wurde mit der gleichen Menge eines physiologischen Kochsalz-(pH 7.0 im folgenden geschrieben) Lösung-Auszugs 1 : 100 von feinst gepulverter *Vaucheria* versetzt. Die Dauer der Extraktion betrug 1/4 Stunde, worauf ganz blank filtriert wurde. Durch Zugabe von Karbolsäure wurden unerwünschte Umsetzungen durch Bakterien etc. verhindert. - Bereits nach 12 Stunden machte sich ein Niederschlag geltend, der völlig einer Präzipitation glich. Schon nach 24 Stunden hatte sich dieser Niederschlag aber wieder vollkommen gelöst. Das Serum hatte nun jenen opaken Schimmer bekommen, wie man ihn bei zu früher Blut-Entnahme nach Antigen-Einspritzung beobachtet. Nach 2 Tagen hatte sich wieder ein Niederschlag gebildet, welcher aber viel geringer war als der

zuerst aufgetretene. - Ein Kontrollglas Extrakt und ein auf gleiche Konzentration gebrachtes Kontrollglas Serum waren innerhalb der Versuchszeit klar geblieben.

So war eine "Präzipitation" durch Digerieren von Serum mit Antigen entstanden, und dies ermutigte zu weiteren Versuchen.

#### DIE HERSTELLUNG VON IMMUNKÖRPERN "IN VITRO".

Wir nahmen ein etwas hämolytisches Serum eines Tieres, das gehungert hatte. Auf je 0,6 ccm kamen im ersten Glas 1 ccm Extrakt aus entfettetem *Cucurbita*-Samen 1 : 100, im zweiten Glas 1 : 200, im dritten Glas 1 : 400, im fünften Glas 1:800.- Das fünfte Glas erhielt 1 ccm pHK.-Lösung und endlich das sechste nur den Extrakt 1 : 100. Dadurch, dass alle Materialien, sofern sie Ursache zur Infektion hätten geben können, durch Hitze oder lange Behandlung mit Äther (behufs Entfettung) sterilisiert worden waren und dazu noch der Gehalt der Versuche auf 0,3 % Karbol gebracht war, erscheint das Auftreten von Bakterien resp. durch sie bedingtem Eiweiss-Abbau ausgeschlossen.

Die grosse Mengen "Antigen" führenden Gläser gaben zuerst eine opalescente Trübung; die verdünnten Lösungen folgten allmählig nach. Die Trübungen verdichteten sich, man möchte sagen, die Kolloide wurden gröber; besonders in dem seitlich hineingehenden Lichtkegel einer Lupe ist diese das TYNDALL-Phaenomen gebende Erscheinung zu beobachten.

So trat also ein sich immer weiter vermehrender Niederschlag auf. Bis zum Ende des zweiten Tages blieben die Kontrollen klar; solange konnten also die Versuche gewertet werden. Dann aber kam eine Trübung der Serum-Kontrolle und der Versuch wurde abgebrochen.

Genau ebenso verfahren wir mit dem Ansetzen eines *Cucurbita*-Antigens mit dem Serum eines Tieres, welches mit dem Lebermoos *Platichila* am Tag vorher injiziert worden war. Es hatte einen sehr starken "idiosyncratischen" Schock erhalten, der aber am nächsten Tag überstanden war. - Da wir nach den Erfahrungen mit den Abwehr-Fermenten annehmen konnten, dass ein Tier in diesem Zustande besonders reich an Alexinen sein müsse, so verwendeten wir dies (etwas hämolytische) Serum. - *Cucurbita* und *Platichila* stehen sich verwandtschaftlich dermassen fern, dass an eine Verwandtschafts-Reaktion nicht zu denken ist.

Wie bei dem vorigen Versuch mit dem Normal-Serum erschienen wieder Trübung und Niederschlag, nur trat dies viel früher ein. Nach einiger Zeit aber zeigte sich, dass der Niederschlag sich wieder löste. - Als sich das Kontroll-Serum nach 48 Stunden trübte, wurde der Versuch zunächst abgebrochen und das durch Digestion mit *Cucurbita* erhaltene Serum auf seine *Cucurbita*-Spezifität geprüft. - Es stellte sich heraus, dass in vitro ein Immunserum von *Cucurbita* entstanden war, welches weiter unten in seinen Reaktionen genauer behandelt werden wird.

Gleichfalls wurde das Serum eines Tieres, welches mit *Riccia* immunisiert worden war, vorgenommen. Das Tier hatte die erste Spritze mit 0,02 g Suspension feinst gepulverter *Riccia* ohne Schaden ertragen; eine zweite gleich hohe Dosis war ebenfalls ohne erkennbare Einwirkung geblieben. Erst auf die dritte, 0,05 g betragende Gabe war ein mächtiger anaphylaktischer Schock eingetreten. - Nach Ablauf desselben wurde eine Probe-Blutabnahme durchgeführt; es war eine schwache Immunisation zu konstatieren, welche (Ableseung nach 12 Stunden, 0,1 ccm und 1 ccm Antigen-Lösung in pHK.) folgende Werte mit *Riccia* selbst ergab:

1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600
2	2	1	tr	-

Dieses Serum wurde anderweitig zu Präzipitationen gebraucht; daher konnten nur geringe Mengen davon zu unsern hier darzustellenden Versuchen Verwendung finden.

Auf 0,4 ccm des Serums, welches vollkommen blank und farblos war, kam nun wieder *Cucurbita*-Eiweiss als Antigen: im 1. Glas = 1 : 100, im 2. Glas 1 : 1000; im 3. Glas 1 ccm pHK.-Lösung; das letzte Glas war Antigen-Kontrolle.

Der Ausschlag des in diesem Falle *in vitro* entstandenen *Cucurbita*-Immunserums war genau derselbe, wie der mit dem nach "idiosynkratischem" Schock gewonnenen Immunserum.

Aus diesen Versuchen konnten wir ableiten: Jedes normale Serum enthält geringe Mengen von Stoffen, welche fermentartig auf fremde Eiweiss-Stoffe einzuwirken vermögen; bei Tieren jedoch, welche unter der Einwirkung einer (mit anderem, völlig fremdem Eiweiss erzeugten) "idiosynkratischen" oder "anaphylaktischen" Disposition standen, waren diese Stoffe vermehrt. - Bei den Versuchen wurden absichtlich relativ grosse Serum-Mengen zur "Verdauung" der Antigene verwendet.

Zweitens zeigte sich bei diesen Versuchen, dass bei der Einwirkung der Sera auf die Antigene zunächst Stoffe entstehen, welche geeignet sind, als erstes das Antigen zu fällen, wobei die entstehende Fällung sich nachträglich wieder löst.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass diese Fällung und dann bei grösserer Einwirkung folgende Lösung eine grosse Ähnlichkeit mit den Präzipitationen hat. Der Schluss drängt sich auf, dass zunächst *in vitro* kleine Mengen von "Immankörpern" gebildet werden, welche solange nicht zur sichtbaren Reaktion führen, als das Antigen noch als Schutz-Kolloid wirkt.

Findet diese Schutzkolloid-Wirkung nicht mehr statt, so erfolgen Ausflockungen, welche zunächst nur grob disperse Sole darstellen. Die Erzeugung von Immankörpern aus dem Antigen geht aber weiter und führt zu deutlichen Ausflockungen. - Bildet sich aber eine grössere Menge von Immankörpern, so wirken diese wieder als Schutz-Kolloid und das Präzipitat löst sich wieder mehr und mehr zu einem grob dispersen Sol.

Die Analogie war so frappant, dass wir es, allerdings ohne zunächst eine unbedingt beweisende Reihe zu erhalten, versuchten, mit diesem "künstlichen, *in vitro* erhaltenen Immunserum" spezifische Reaktionen anzusetzen.

Hier müssen wir die oben kurz erwähnten Ergebnisse der bei Besprechung der WASSERMANN-Reaktion geschilderten Digestion von normalen Organen mit Normal-Serum heranziehen. Sie haben ganz sichere Komplement-Bindung ergeben. Die Erklärung dieser Versuche lag darin, dass im Serum abbauende Stoffe vorhanden sind, wobei die entstehenden Abbau-Produkte die Eigenschaft haben, mit den Inhalts-Stoffen der luetischen Organe und gleichfalls, wenn auch schwächer, mit denen der normalen Organe zu reagieren.

Werden diese Versuche zur Erzeugung künstlicher Präzipitationen und deren partielle Lösung gewürdigt, so lag der Verdacht nahe, dass sie eine Parallele zu unsern Erzeugungen "künstlicher Immunisationen *in vitro*" darstellen.

Wenn wir die hypothetische Annahme machen, dass in dem Reagenzglas durch die Einwirkung irgendwelcher Fermente (seien es nun die Abwehr-Fermente zur Zerstörung abgestorbener Elemente des Körpers, seien es Verdauungsfermente, welche das Pepton oder die Albumosen oder gar geringe Mengen noch höher konstituierter ins Plasma gedrungener Eiweiss-Stoffe weiter abbauen), Immankörper als Früchte erzeugen, so müsste nach unsern Erwägungen und Erfahrungen der Vorgang etwa folgendermassen verlaufen:

Sobald die Menge des Präzipitins so gross geworden ist, dass das Antigen keine Schutzkolloid-Wirkung mehr auf das Präzipitat auszuüben vermag, muss eine Trübung auftreten. Mit fortschreitender Vermehrung des Präzipitins wächst die Grösse des Niederschlages. Sobald ein bestimmtes Optimum überschritten ist, nimmt die Menge des Niederschlages wieder ab, weil nunmehr das Präzipitin als Schutz-Kolloid wirkt. Der Endpunkt würde seine vollständige Lösung sein. Da es sich aber (wie oben ausgeführt) bei unsern Untersuchungen wohl niemals um einfache Eiweiss-Stoffe, sondern stets um eine Vielzahl von Antigenen handelt, so wird dieser Endpunkt nicht so unmittelbar in Erscheinung treten. Am Anfang des Auftretens wie vor der völligen Lösung muss ein Hydrosol von geringer Dispersität zur Wahrnehmung kommen. Die Lösung wird eine deutliche Opaleszenz, ein starkes TYNDALL-Phänomen besitzen. Erst eine solche Lösung enthielte das Präzipitin im Überschuss. Doch kann dieser Moment nie völlig in Erscheinung treten, weil mit dem fortschreitenden Abbau auch die Eiweiss-Stoffe des Serums selber dem Abbau unterliegen. Die Präzipitation, oder sagen wir besser die Auto-Präzipitation, kommt erst sehr spät in Erscheinung,

denn die Masse des Auto-Antigens ist sehr gross und wirkt deshalb als Schutz-Kolloid. Wenn das in Erscheinung tritt, dann wird das unveränderte Serum trübe. Dies ist auch wirklich der Fall. Auch bei diesem Vorgang sieht man das allmähliche immer mehr beschleunigte Ausfällen, aber zur Wieder-Lösung kommt es meist nicht, weil die Fermente eher ihre Wirksamkeit verlieren.

Mit diesen theoretisch abgeleiteten Erscheinungen stehen nun die tatsächlichen Befunde bei solchen Untersuchungen in allerbesten Übereinstimmung.

Von besonderem Interesse sind die Erscheinungen in den Präzipitations-Versuchen mit Immunserum, sofern man die Beobachtungs-Dauer über 12 Stunden ausdehnt. Eine solche längere Dauer der Beobachtungen haben wir bei unsern praktischen Untersuchungen bisher niemals stattfinden lassen, weil wir uns bisher von den dann eintretenden Erscheinungen kein theoretisches Bild machen konnten und die unter solchen Bedingungen beobachteten Abweichungen von den normalen Reaktionen zu deuten nicht imstande waren.

Wird die verlängerte Beobachtungs-Zeit eingeführt, so kann man das immer mehr sich verstärkende Ausfällen von Präzipitationen beobachten. Da diese Versuche aber noch anderes zeigten, was von Wichtigkeit ist, so mögen einige Reihen derselben hier aufgeführt werden. Es handelt sich um eine sehr schwache Immunisation mit *Plagiochila*. Die Versuche dienten zur Feststellung der Verwandtschafts-Verhältnisse innerhalb der Lebermoose.

In der ersten Reihe der folgenden Tabellen sind die Ablesungen nach 12 Stunden, in der zweiten die nach 36 Stunden, in der dritten die nach 56 Stunden eingetragen. - Die Vertikal-Reihen bedeuten: die erste 1 ccm Extrakt 1 : 200, die zweite 1 : 300, die dritte 1 : 400, die vierte 1 : 500. - In der fünften Vertikal-Reihe ist angegeben die Reaktion von 1 ccm Extrakt 1 : 200 mit dem Serum eines normalen Tieres. - Die Versuche liefen nur so lange, als das Immunserum allein klar blieb. In die Gläser 1 - 4 waren je 0,1 ccm Immunserum zugegeben.

<i>Plagiochila</i>	1	1	1	1	0	<i>Frullania</i>	tr	tr	1	1	0
	tr	tr	2	2	0		2	1	tr	tr	0
	2	2	2	2	1		2	1	1	1	0
<i>Ricciella</i>	1	tr	0	0	0	<i>Ptilidium</i>	tr	tr	0	0	0
	tr	tr	0	0	0		1	1	0	0	0
	1	1	tr	1	0		2	1	tr	1	0
<i>Lophocolea</i>	tr	1	tr	0	0	<i>Madotheca</i>	2	2	2	tr	0
	1	tr	tr	1	0		1	2	2	tr	0
	2	1	2	tr	0		tr	2	2	1	0
<i>Metzgeria</i>	1	tr	0	0	0	<i>Pellia</i>	tr	tr	tr	tr	0
	tr	1	1	tr	0		0	tr	1	1	0
	tr	1	1	tr	0		1	1	2	1	0
<i>Blasia</i>	1	0	0	0	0	<i>Dumortiera</i>	tr	0	0	0	0
	0	0	0	0	0		1	0	0	0	0
	1	1	1	tr	0		1	1	tr	tr	0
<i>Scapania</i>	tr	0	0	0	0	<i>Chiloscyphus</i>	1	1	1	1	0
	0	0	0	0	0		1	1	1	tr	0
	1	1	tr	0	0		3	tr	tr	tr	0

Nur unserer theoretischen Erwägungen wegen kommen wir hier auf die nach längerer Zeit gemachten Ablesungen, denn sie sind für uns hier von grosser Bedeutung; bei unsern gewöhnlichen Verwandtschafts-Reaktionen vermeiden wir die später eintretenden Komplikationen ganz allgemein, indem wir nur die Ablesungen nach 12 Stunden berücksichtigen.

Bei den späteren Ablesungen finden wir zunächst, dass sich die Niederschläge vergrössern. Dafür gibt es unserer Meinung nach nur die einzige Erklärung, dass das Serum fortführt, die Eiweiss-Stoffe abzubauen.

Zweitens erscheinen nun die oben bereits besprochenen Doppelkurven. Es werden bereits entstandene Niederschläge wieder gelöst. Aber in denselben Gläsern erscheinen dann die Niederschläge von neuem. Das sind Erscheinungen, die uns zunächst unerklärlich waren, welche aber unsere jetzigen Anschauungen über ein Fortschreiten des Abbaus der Eiweiss-Stoffe durch das Serum erheblich stützen und unter diesem Gesichtswinkel ihre Erklärung finden. Wenn der Reihe nach für alle verschiedenen Stoffe des Idioplasmas nacheinander die Kurven erzeugt und weiter verschoben werden, so müssen solche Gesamt-Reaktionen eintreten.

Ist nun die Annahme der Erzeugung von Immunkörpern als Abbauprodukte der Antigene richtig, so muss ein Ansatz, wie er in den Versuchen mit Seren vorlag, die lange Zeit unter Karbol-Sterilisation auf Antigene einwirkten, geeignet sein, sowohl Conglutination wie Präzipitation hervorrufen. - An diese Versuche sind wir zunächst sehr skeptisch herangegangen.

Nach 14-tägigem Stehen der Versuche von Tieren verschiedener Zustände wurden die noch vorhandenen Niederschläge durch Filtration beseitigt und das erste und dritte sowie das zweite und vierte Glas zusammengenommen mit pHK-Lösung auf das zehnfache Volumen verdünnt. Die Zugabe von 0,5 % Phenol versteht sich von selbst.

Mit den so hergestellten künstlichen, in vitro erzeugten Seren wurden darauf Conglutinations-Versuche in der von uns allgemein geübten Weise vorgenommen, nur wurden die Mengen der "künstlichen Immunsera" etwas grösser gewählt, weil wir die allzu grosse Verdünnung fürchteten.

Das Extrakt war aus *Cucurbita*-Samen, die mit Alkohol und Äther ausgezogen gewesen waren, im Verhältnis 1 : 200 angesetzt. Folgende Ergebnisse fielen:

Idiosyncratisches Serum, Glas 1 und 3.

Immunserum	Extrakt	20'	40'	60'	90'	120'	150'
0,3 ccm	1 ccm	0	0	tr	tr	tr	tr
0,15 ccm	1 ccm	1	1	1	1	1	1
0,1 ccm	1 ccm	0	1	1	1	1	1
0,05 ccm	1 ccm	0	0	1	1	1	1
0 ccm	1 ccm	0	0	0	0	0	0
0,3 ccm	0 ccm	0	0	0	0	0	0

Idiosyncratisches Serum, Glas 2 und 4.

Immunserum	Extrakt	20'	40'	60'	90'	120'	150'
0,3 ccm	1 ccm	1	1	1	1	1	1
0,15 ccm	1 ccm	0	1	1	1	1	1
0,1 ccm	1 ccm	0	0	0	1	1	1
0,05 ccm	1 ccm	0	0	0	0	tr	1
0 ccm	1 ccm	0	0	0	0	0	0
0,3 ccm	0 ccm	0	0	0	0	0	0

Hämolytisches Normalserum, Glas 1 und 3.

Immunserum	Extrakt	20'	40'	60'	90'	120'	150'
0,3 ccm	1 ccm	tr	1	1	1	1	1
0,15 ccm	1 ccm	tr	1	1	1	1	1
0,1 ccm	1 ccm	0	tr	tr	tr	tr	tr
0,05 ccm	1 ccm	0	0	0	0	tr	tr
0 ccm	1 ccm	0	0	0	0	0	0
0,3 ccm	0 ccm	0	0	0	0	0	0



Die Ergebnisse dieses künstlich in vitro hergestellten *Cucurbita*-Immunserums bezüglich der Verwandtschafts-Reaktionen der Cucurbitaceen decken sich vollständig mit den früher bereits von PREUSS (Cohn's Beitr. XIII, 1917) veröffentlichten, mit "natürlichem" (d.h. durch Immunisation eines Tieres mit *Cucurbita* gewonnenem) Immunserum erzielten. Insbesondere tritt mit diesem "künstlichen" Immunserum klar die nahe Verwandtschaft der *Carioceae*, *Turneraceae* (von PREUSS nicht untersucht), *Pasifloraceae* mit den *Cucurbitaceae*, aber auch deren Beziehungen zu andern *Parietales*-Formenkreisen sowie zu den *Campanulatas* hervor.

Wir könnten ferner zur Unterstützung und zu weiteren Beweisen für die Spezifität der auf dem angegebenen Weg, durch Verdauung der Antigene mittelst Normalserum (resp. idiosynkratisch resp. anaphylaktisch aktiviertem Normalserum) gewonnenen künstlichen Immunsera die Ergebnisse heranziehen, welche ausgehend von *Diospyros*, *Styrax*, *Campanula*, *Fraxinus*, *Viola*, *Reseda*, *Podophyllum*, *Ranunculus*, *Menispermum* und *Chrysophyllum* als Lieferanten des der Beeinflussung durch Normalserum unterworfenen Antigens gewonnen wurden. Sie ermöglichten, die Ergebnisse der Untersuchungen von PREUSS über die *Parietales* nachzuprüfen und zu bestätigen; das Ergebnis war also eine völlige Verifikation des von uns aufgestellten sero-diagnostischen Stammbaums in seinen wesentlichen Aussagen über die *Parietales* und damit die Sicherung der Tatsache, dass die "künstlich" in vitro erzeugten Immunsera die gleichen Reaktionen geben wie die "natürlichen", durch die Versuchstiere erzeugten; demnach dieselben Körper darstellen. - Auch bei Gymnospermen wurden mit einem "Kunstserum", von *Picea* ausgehend, Ergebnisse erzielt, welche nicht nur die Angaben von KIRSTEIN (Mez, Archiv II, 1922) und MISCHKE (Mez, Archiv XI, 1925) bestätigten, sondern insbesondere auch durch bessere Differenzierung der *Abietinae* wesentlich ergänzten. Die Bedeutung der "Kunstsera" für die Verwandtschaftsforschung wird bald grösser werden als die der "Natursera".

Damit sind die ersten "künstlichen" Immunsera hergestellt worden. Die von MEZ, Archiv I, 1922, p. 192, zuerst geäußerte Vermutung, "dass es sich dabei um eine fermentartige, durch das (Immun-) Serum bewirkte Umwandlung der Eiweiss-Körper des Extrakts, um eine Immunkörper-Bildung in vitro handelt", hat ihre experimentelle Bestätigung erfahren.

#### THEORETISCHE FOLGERUNGEN AUS DEN EXPERIMENTEN MIT KÜNSTLICH ERZEUGTEN IMMUNKÖRPERN.

Es besteht somit die Tatsache zu Recht: Die Alexine und Abwehr-Fermente des normalen, besser noch eines idiosynkratischen oder anaphylaktischen Tieres sind imstande, die artfremden Eiweiss-Stoffe abzubauen. Diese Abbau-Stoffe oder zum mindesten ein bestimmtes Stadium der sich beim Abbau entwickelnden Kette besitzen die Eigenschaft, als Immunkörper zu wirken. Sie sind spezifisch.

Demnach sind diese Immunstoffe nicht die Resultanten von Reizen, sondern der auf das Tier ausgeübte Reiz führt nur zu einer Vermehrung der (neutralen, nicht spezifischen) abbauenden Fermente und deren Einwirkung auf die Antigene erzeugt die Immunkörper.

Der bereits von BUCHNER ausgesprochene Satz: "Die Antitoxine sind nichts als entgiftete Toxine" hat demnach durch uns seine experimentelle Bestätigung erfahren.

Wir wollen uns nun des weiteren noch nach einigen Erfahrungen umsehen, welche von unserm so gewonnenen Standpunkt aus ihre Erklärung finden können:

MICHAELIS und OPPENHEIMER fanden, dass eine Verdauung mit Pepsin-Salzsäure Eiweiss-Stoffe ungeeignet macht, im Reagenzglas als Antigen zu wirken. Aber mit diesen als Reagenz ungeeigneten Peptonen kann man nichtsdestoweniger im Tier Antitoxine erzeugen.

Ferner: durch Einspritzen von Toxinen, welche durch Antitoxine unschädlich gemacht sind, kann man von neuem Immunkörper erzeugen.

Auch scheint uns die ganze Fremd-Eiweiss-Therapie mit den hier angestellten Erwägungen in innigem Zusammenhang zu stehen: durch Injektion irgendwelcher Eiweiss-Körper werden die Abwehr-Fermente im Blut stürmisch vermehrt; diese wirken nun auch auf eingedrungene Krankheits-Erreger und erzeugen aus ihnen spezifische Immunkörper.

Die von MATTHES zuerst empfohlene Fremdeiweiss-Therapie kann man etwa wie folgt kennzeichnen: sie ist auf den drei grossen Gruppen: Eiweiss, Lipoid und Fett aufgebaut und richtet sich nicht gegen einen bestimmten Krankheits-Erreger, sondern ist über diese enge Begrenzung hinaus auf den ganzen Körper eingestellt. Diesen durch die rasche, energische und nachhaltige Steigerung aller seiner Abwehrkräfte ungesäumt wehrhaft zu machen und auf solchem indirekten Weg zur Überwindung von Krankheiten zu befähigen ist Ziel und Zweck dieser Eingriffe. Durch eine solche verhältnismässig harmlose Einwirkung auf den Körper erfolgt eine rasche Umstimmung des gesamten Organismus, bestehend in überaus starker Vermehrung der (nicht spezifischen) Abwehr-Fermente; darauf folgend die erhöhte Einwirkung auf die Krankheits-Erreger, gefolgt von schnellerer Entfieberung und Abkürzung der Krankheits-Dauer.

Dieses Verhalten ist belegt durch unsere Erfahrungen mit dem rascheren und vollständigeren Einwirken anaphylaktischer oder idiosynkratischer Seren, welche diese Eigenschaften durch irgend ein beliebiges Eiweiss erhalten hatten, auf die "Verdauung" der Antigene in vitro (siehe oben); das Verhalten des Körpers bei der "Fremdkörper-Therapie" ist ein schlagender Beweis dafür, dass nicht die Antikörper in ihrer ganzen Spezifität durch den auf den Organismus ausgeübten Reiz erzeugt werden, sondern nur die Fermente, welche nun ihrerseits auf die Fremdstoffe einwirken und aus ihnen die spezifischen Antikörper erzeugen. Was wir einspritzen, ist letzten Endes einerlei; es muss nur geeignet sein, eine Reizwirkung auszulösen, die zur Bildung von Abwehr-Fermenten führt.

Abweichend von den unter den Medizinern herrschenden Anschauungen hat MEZ (in Mez, Archiv I (1922) p. 177 - 178) mit BUCHNER betont, dass die spezifischen Immunkörper aus dem Antigen stammen, durch Abbau desselben hervorgebracht werden. MEZ war ausgegangen davon, dass die Tier-eigene Bildung der Antikörper nur denkbar sei bei solchen Antikörpern, welche gegen verbreitete Krankheiten spezifisch sind und die "eigene" Antikörper daher durch Selektion im phylogenetischen Sinn erworben haben könnten, nicht aber bei solchen Antikörpern, welche auf das Eiweiss von Pflanzen spezifisch wirken, die nachweisbar niemals mit dem tierischen Organismus in Berührung gekommen sind. Mit solchen aber haben wir von jeher bei unsern Arbeiten über die Verwandtschaften der Pflanze zu tun gehabt. - Nun gewinnen diese Ansichten durch unsere Erzeugung "künstlicher" Immunkörper in vitro ihre sichere experimentelle Begründung.

#### DIE SERO-DIAGNOSTISCHE VERSUCHSANORDNUNG.

Nach diesen Erfahrungen mit der künstlichen Darstellung von Immunkörpern durch "Verarbeitung" oder "Verdauung" von Antigenen durch Normalsera erscheint es angebracht, einmal die Versuchsanordnung unserer serologischen Experimente von Neuem zu betrachten. Wir wollen auch hier bei der von uns am meisten geübten Präzipitation bleiben.

Besonders bei deren Form als Conglutination war man bisher der Meinung, das im Rinderserum enthaltene Conglutin beschleunige die sonst nur langsam verlaufende Fällung. Gleichzeitig solle die grosse Menge des im Rinderserum enthaltenen Komplementes die Fällung sicher stellen. Aber darüber, dass beobachtungsgemäss ein Überschreiten der Dauer von 150 Minuten der Einwirkung für die Brauchbarkeit der Reaktionen zu Schlüssen über die Verwandtschaften schädlich war, konnte man sich keine Vorstellungen machen. Aus welchem Grund trüben sich nach den als Reaktionsspanne empirisch festgestellten 150 Minuten die Kontrollen? - Wir hatten uns zurecht gelegt, im Laufe der Zeit wirke eben das Conglutin auch ohne Gegenwart von Immunkörpern fallend auf die Eiweiss-Stoffe. Aber dies war offenbar nur eine Umschreibung des empirisch gefundenen Verhaltens, also keine Erklärung.

Von unserm nun gewonnenen Standpunkt aus wird das vielleicht verständlich. Die Reaktion dürfte auf folgende Weise zustande kommen: Jedes Serum enthält nur eine gewisse Menge von Immunkörpern. Daneben sind darin aber auch noch Alexine vorhanden, welche während des Versuches aus dem Antigen neue Immunkörper erzeu-

gen. Eine spezifische Reaktion rufen von beiden natürlich nur die von Anfang an vorhandenen Immunkörper hervor, denn die nachher erzeugten stimmen mit den erst vorhandenen nur dann überein, wenn die Rück-Reaktion mit der Ausgangs-Spezies gemacht wurde, nicht aber bei Verwandtschafts-Reaktionen, insbesondere mit ferner stehenden Formenkreisen.

Unter allen Umständen entstehen aber bei der Einwirkung der Alexine auf die bei der Verwandtschafts-Reaktion verwendeten Eiweiss-Stoffe dann Fällungen, wenn die Zeit der Einwirkung lang genug war: die an sich unspezifischen Alexine erzeugen allmählig spezifische, aber über die Verwandtschaft des erst verwendeten Eiweisses nichts aussagende, sondern mit den Reaktions-Eiweissen zusammengehörige Immunkörper. Das sind dann Fehler, die nur durch die genaue und empirisch ermittelte Beobachtung der Einwirkungs-Zeit ausgeschaltet wurden.

Auch durch bei den Reaktionen stets mitlaufende Kontroll-Versuche schützen wir uns vor solchen Fehlern: durch den Ansatz von Eiweiss-Arten, von denen wir absolut sicher wissen, dass sie in keiner irgendwie vorhandenen näheren Verwandtschaft mit dem Ausgangs-Formenkreis stehen (z.B. Endglieder fernstehender Zweige der Phanerogamen, niedere Kryptogamen bei Reaktionen mit Gymnospermen etc.) Dann müssen neben den positiven Reaktionen mit Verwandten auch negative mit nicht Verwandten vorhanden sein. Enthält ein Serum eine übergrosse Menge von Alexinen, so wird es letzten Endes, besonders, wenn die Reaktionszeit genügend lange bemessen wird, mit allen Eiweiss-Arten eine Fällung erzeugen. Wir haben stets nur solche Reaktionen gewertet, bei denen neben den positiven auch negative vorhanden waren; die Wertung der positiven durfte niemals länger statthaben, als bis in einem sicher fern stehenden und erst negativen Eiweiss die erste Trübung auftrat. - Dies ist in praxi dasselbe, nämlich die Bildung von Immunstoffen aus dem Reaktions-Eiweiss, was uns zu der von Anfang an stets geübten Praxis der Kontrolle: Normalserum plus Antigen brachte: wird dieses Probeglas trübe, so ist dies ein Beweis dafür, dass in vitro Immunstoffe erzeugt wurden; ihr Auftreten muss alle Verwandtschafts-Reaktionen illusorisch machen. Deshalb wurde jeder Versuch, bei dem Trübung dieser Kontrolle eintrat, verworfen. - Über eine andere Art, diesen bei Verwandtschafts-Reaktionen verhängnisvollen Fehler zu vermeiden, wird weiter noch unten gehandelt werden.

Die Ursache dafür, dass wir mit dem Schlachten des Tieres wenn irgend möglich 6 Tage nach der letzten Spritze warten, liegt darin, dass nach dieser Zeit die Abwehr-Reaktion im Körper schon einigermaßen abgeklungen ist, die Alexine sich dann der normalen Menge wieder nähern. Je grösser die Menge der Alexine bei normalen Versuchen, umso leichter kommen die eben behandelten Störungen zustande. Sera von Tieren, welche man unmittelbar nach einem idiosynkratischen oder anaphylaktischen Schock hat notschlachten müssen, bedürfen bei den Reaktionen einer besonders peniblen Anwendung aller Kontrollen. Ist aber nach den bezeichneten 6 Tagen das Serum wieder in seinen Eigenschaften dem Normalserum ähnlich geworden, so gewinnen die Kontrollen mit Antigen und Normalserum ihre überzeugende Kraft. Nur dann ist ein Versuch zu verwerfen, wenn die betreffende Eiweiss-Art nicht mit dem Normalserum reagiert hat.

Aber nicht nur die Versuchs-Anordnung und ihre Kontrollen, welche wir seinerzeit gewissenmassen blindlings aus den Anleitungen des hygienischen Instituts Königsberg übernommen hatten und welche dort gleichfalls als Ergebnis der Empirie geübt wurden, erscheinen uns nun erst voll verständlich, sondern auch das langsame Eintreten der Reaktionen und ihre allmähliche Steigerung.

Das, was in kurzer Zeit ausfällt, etwa die UHLENHUTHschen Ringe, geht auf den Gehalt des Serums an Immunkörpern unmittelbar zurück. Mit Recht hebt UHLENHUTH diese Ringe so besonders hervor. Bei tierischen Versuchen ist das unbedingt richtig; hierbei kann man sogar mit ganz kleinen Mengen auskommen. Aber bei pflanzlichen Objekten ist man mancherlei Widerwärtigkeiten ausgesetzt, sodass wir mit dieser sonst so bequemen Versuchsordnung nicht immer gute Erfahrungen gemacht haben.

Der bei der Präzipitation unmittelbar nach dem Ansetzen erfolgende Ausschlag ist auf die schon im Immunserum vorhandenen Präzipitine zu rechnen. Dies ist aber

eine Menge, welche nur für ganz nahe und in grosser Menge vorhandene Antigene ausreicht. Wenn man nun den Versuch stehen lässt, so entwickeln sich in allen Gläsern von neuem Immunkörper, die auf das jeweils verwendete Reaktions-Eiweiss gestimmt sind. Sobald die Menge des schon vorhandenen und des neu entstandenen Präzipitins hinreichend ist, erfolgt der Ausfall. - Es liegt nun auf der Hand, dass in diesem Relais-System die nahe verwandten Pflanzen am ehesten reagieren müssen, weil hier am ehesten die Bedingungen zum Ausfall gegeben sind.

Daher empfiehlt sich, bei der Präzipitation schon nach der halben der bisher üblichen Zeit, also schon nach etwa 6 Stunden, die erste Ablesung vorzunehmen.

Ein Fehler haftet aber der ganzen Präzipitation an: das ist die verschiedene Abbau-Geschwindigkeit verschiedener Eiweiss-Stoffe mit dem Immenserum. Dies ist der nun begreifliche Grund dafür, dass im Königsberger Institut (empirisch gefunden) stets Präzipitation und Konglutination zusammen parallel verwendet wurden und die Ergebnisse nur nach dem Ausfall beider Methoden gewertet wurden.

In mancher Hinsicht ist die Konglutination besser als die Präzipitation; ihr Vorteil besteht nicht allein (wie wir zuerst glaubten) in der geringeren Serum-Menge, die für die Versuche notwendig ist. Bei der Konglutination ist die vorhandene Menge von Rinderserum bedeutend grösser als die des Immenserums und in allen Gläsern gleich. Die Kontrollen reagieren daher eigentlich viel schärfer.

Aber der Nachteil der Konglutination liegt an dem oft nicht raschen Abbau der Antigene, sodass die Eintrittszeit der Reaktion nicht in ähnlicher Weise ablesbar ist, wie bei der Präzipitation; die Ausschläge kommen erst zuletzt. - Bei der Konglutination ist das genaue Einhalten der Versuchszeit ganz unbedingt notwendig.

Da sich bei den vorschreitenden und überaus vielseitigen Untersuchungen in unserem Institut manche in der früheren Anweisung (MEZ in Mez, Archiv I, 1922) noch nicht beschriebenen Verbesserungen, Abweichungen und Vereinfachungen der Methodik ergeben haben, möge zunächst unsere jetzige Praxis bei der Immunisation von Tieren dargestellt werden:

Zunächst hat sich herausgestellt, dass ein generelles Ausziehen des Materials mit Alkohol unter Zugabe einer kleinen Menge von Weinsäure von Vorteil ist. Diese Manipulation wurde behufs Beseitigung von Alkaloiden eingeführt; sie hat sich ganz allgemein bewährt, denn es werden dadurch nicht nur giftige Bestandteile der Pflanzenpulver beseitigt, sondern, zusammen mit der folgenden Äther-Anwendung, liefert diese Behandlung auch klarere Extrakte. - Unter Umständen empfiehlt sich eine mehrmalige Wiederholung dieser Alkohol-Weinsäure-Extraktion. Darauf folgt prinzipiell ein gründliches Ausäthern. Dieses hat den Zweck, zunächst die bei den Reaktionen sich störend bemerkbar machenden Fette und Lipide zu beseitigen. Die Lipide besitzen, wie wir oben bei Besprechung der WASSERMANN-Reaktion ausführten, eine unspezifische Einwirkung auf die Sera; ihre Beseitigung ist daher von grosser Bedeutung.

Ferner ist die durch Äther-Alkohol-Anwendung eintretende Sterilisation nicht ohne Bedeutung. Zwar werden die Mikroorganismen schon durch die "desinfizierende" Kraft des Serums selbst sowie durch den stets angewendeten Phenol-Zusatz (0.3 %) zurückgehalten, wenn nicht gar vernichtet. Wir haben keine Einbusse von Tieren infolge bakterieller Intoxikation mit so behandeltem Material zu verzeichnen gehabt, doch ist dieser Punkt wegen der "baktericiden Kraft" der Bauchhöhle weniger ins Gewicht fallend. Dagegen liegt eine nicht zu verachtende Fehlerquelle in der Verunreinigung des Materials mit Schimmelpilzen vor. Seitdem wir wissen, dass sich bei gemischtem Antigen Doppel-Immunisationen mit beiden Komponenten geltend machen, ist immer eine gewisse Gefahr in der Reaktion durch Schimmelpilze zu befürchten. Denn diese können (und ihre verbreitetsten Formen sind wohl) auf jedem toten Pflanzenteil vorhanden sein. - Für die zu Versuchen benützten Antigene ist diese Gefahr der Fehlerquelle nicht so gross, wenn nur das Impfmateriel völlig frei von Schimmel war. Wir haben experimentell in manchen Fällen Schimmelpilze mit angesetzt und doch, bei gutem Reaktions-Material, keine Reaktionen mit ihnen bekommen. Dies kann wohl, als im allgemeinen beruhigend, mitgeteilt werden. Doch ist diese Fehlerquelle theoretisch stets zu berücksichtigen.

Dieselbe Fehlerquelle ist selbstverständlicher Weise auch mit Bakterien gege-

ben. Besonders bei im Wasser lebenden Pflanzen (Algen etc.) ist diese Frage akut geworden und musste berücksichtigt werden. Auch wird hier vielleicht die eine oder andere Reaktion noch einmal mit absolut bakterien-freiem Material nachzuprüfen sein. Aber, wenngleich die Bakterien niemals völlig auszuschliessen sind, so kann doch ihre Menge derart reduziert werden, dass die Reaktion keine Störung erfährt. Verifiziert können solche Reaktionen übrigens dadurch werden, dass mit dem (vielleicht aus unreinem Material gewonnenen) Serum Reaktionen direkt mit Bakterien gemacht werden. Bei dem negativen Ausfall solcher Kontrollen wird man zu der Hauptreaktion das nötige Zutrauen haben dürfen. - Wird einmal die serologische Untersuchung der Verwandtschaftsverhältnisse des Tierreiches in Angriff genommen, so werden die hier erörterten Gesichtspunkte eine noch erhöhte Bedeutung besitzen. Hier wird vor allem wohl der Darm entfernt und trotzdem auch noch bei niederen Tieren mit Bakterien-Kontrollen gearbeitet werden müssen.

Handelt es sich bei der Untersuchung um leicht verderbliche Körper, wie etwa fleischige, zum Faulen neigende Pflanzenteile, so tut man am besten, die gereinigte Substanz gleich in Alkohol zu werfen und erst nach dem Äthern zu trocknen. Dies Verfahren macht auch das Trocknen sehr leicht.

Die Trockensubstanz wird am besten über ungelöschtem Kalk in Trockenkästen oder in extremen Fällen (Algen etc.) über Chlorcalcium resp. Phosphorpentoxyd im Exsiccator scharf getrocknet. Dadurch wird sie ganz spröde und in den meisten Fällen leicht pulverisierbar. Auf diesen Umstand soll man ein möglichst grosses Gewicht legen. Das Pulver ist durch Tücher feinst zu beuteln. - Andererseits gibt es wieder Einzelfälle (z.B. holzige Pilze etc.), die auf die angegebene Weise nicht klein zu bekommen sind. Sie müssen am besten nass zerrieben werden, wobei die Zugabe von Bimsstein notwendig sein kann. Der Bimsstein wirkt wie feine Messer, zerreisst die Zellen und zerpulvert die Inhalte. Durch häufiges Umgiessen kann man die leichteren organischen Teile des Pulvers noch etwas von den Bimssteinteilchen befreien. - Bei der Untersuchung der Pilze mussten alle Antigene auf diese Weise mit Bimsstein verrieben werden, weil es auf andere Weise nicht gelang, zum Inhalt der Zellen zu gelangen und brauchbare Auszüge zu erhalten.

Zur Injektion sind wir mehr und mehr auf Auszüge mit verstärkter Natronlauge (bis 1 %) übergegangen, welche abfiltriert oder auch nur abgegossen wurden. - Diese Lösung ist vor der Injektion in die Bauchhöhle des Tieres zu neutralisieren; eine Filtration ist dabei nicht nur unnötig, sondern sogar direkt fehlerhaft, weil durch die Neutralisation die Nucleo-Proteide gefällt werden, in denen wir nun mit aller Wahrscheinlichkeit die Träger der spezifischen Reaktionen zu sehen haben, die also die bei der Serum-Untersuchung gewollten Wirkungen bedingen.

Im allgemeinen ist diese Extrakt-Bereitung mittels Natronlauge bei allen höheren Pflanzen leicht durchführbar; sie versagte aber völlig bei Pilzen und Moosen, wie sie auch bei den Algen schon, gewissermassen instinktiv und empirisch, abgeändert gewesen war. Bei Moosen und Pilzen werden die Tiere oft nach 20 Spritzen noch nicht immun.

Durch die Arbeiten von ZIMMERMANN (vergl. ZIEGENSPECK in Mez, Echo I, 1925) wurden wir auf die bei Blut-Transfusionen gewonnenen Ergebnisse aufmerksam, welche dartun, dass von den Versuchstieren nicht nur Lösungen, sondern auch feinste Suspensionen im Zwerchfell aufgenommen werden. Damit versuchten wir nun unser Heil.

Zunächst traten viele Tierverluste ein, weil die Tiere unter stürmischen idiosynkratischen Erscheinungen zugrunde gingen. Hatten sie aber diese überwunden, so verendeten sie bei der nächsten Spritze häufig, nochmals (ganz gegen die Regel) nun "anaphylaktisch" erkrankend.

Eine Möglichkeit, auf diesem Wege vorzugehen, bestand dagegen, wenn wir mit ganz verschwindend kleinen Mengen, etwa 0,02 g begannen. Wurde das zweite mal ebenfalls 0,02 g eingespritzt, so erhielten wir oft bereits nach diesen Dosen gute Immunitäten; die nächste Spritze kann auf 0,03 - 0,04 g bemessen werden. Dadurch wurde in fast allen Fällen bei Pilzen die gewünschte Serum-Stärke erzielt. - Bei höheren Pflanzen und auch bei Moosen begannen wir mit 0,05 g und steigerten über 0,1 g bis 0,3 g. - Die enorm starke Wirkung der eingebrachten Suspensionen zeigte sich in fast allen Fällen durch überaus starke Reaktion der Tiere.

In manchen Fällen, so z.B. bei Auriculariaceen, Tremellaceen und andern stark gallertartigen Pilzen geht eine Injektion von Extrakten überhaupt nicht; aber auch eine Injektion von Suspensionen ist nur dann möglich, wenn die Objekte ganz staubfein gepulvert sind und sofort eingespritzt werden. Die Wirksamkeit ist aber selbst dann nur minimal. - Hier haben wir uns so geholfen, dass wir das staubfeine Pulver mit reinem Öl anrührten und so in die Bauchhöhle injizierten. Die Tiere vertragen die Öl-Behandlung gut, und die Wirksamkeit der Eiweiss-Stoffe als Antigen leidet bei dieser Applikation nicht. - Es hat den Anschein, als ob die mit Fett durchtränkten Teilchen nicht so leicht verquellen und damit nicht die "Maschenweite" des Zwerchfelles überschritten, also in die durch Austreten von Presszellen geschaffenen Poren eindringen können. - Das Blut des Versuchstieres trennt dann Pils-Eiweiss und Fett ganz vorschriftsmässig und verhilft ersterem zu seiner immunisierenden Wirkung.

Es wäre vielleicht noch zu untersuchen, ob man auf diesem Wege durch Anlage von "Depots" nicht eine langsamere, aber von geringeren Tierverlusten begleitete Immunisation erzielen kann. Darauf möge im Hinblick auf die "Depotanlage" in der Wismut-Therapie hingewiesen werden, wie ja überhaupt, was die Technik betrifft, die Serologie bei den Medizinern in die Schule gehen muss.

Jeden zweiten Tag spritzen wir nun die Tiere, während wir früher, den Anleitungen der medizinischen Forscher folgend, erheblich längere Zeit warteten. Bei dieser, nicht allein auf Beschleunigung, sondern auch auf zuverlässigere Immunisation zielenden schnellen Aufeinanderfolge der Injektionen ist es aber ganz unbedingt notwendig, die Tiere aufs genaueste zu beobachten. Entweder nach der ersten Spritze mit Antigen-Aufschwemmung, fast immer aber nach der zweiten erkranken die Tiere sofort unter den oft beschriebenen Erscheinungen. Während nun dieser Schock meist rasch ver klingt, leiden manche Tiere sehr darunter und siechen dahin. - Jedes mal, wenn ein Tier so stark auf eine Einspritzung reagiert hat, entnimmt man nach 2 Tagen Probelut aus der Ohrvene. Das Serum zeigt dann zumeist bereits eine mehr oder minder hohe Immunität.

Da es für unsere sero-diagnostischen Zwecke nur erwünscht ist, möglichst kleine Reichweiten zu erzielen, weil diese eine viel bessere Ausdeutung ermöglichen, so ist die Überwachung der Tiere unbedingt notwendig. Legt aber nach etwa 12 Stunden ein Tier auch den Kopf auf die Seite und ist ganz apathisch, so ist es höchste Zeit die Notschlachtung vorzunehmen. Auf diese Weise haben wir oft schon sehr gute Sera erhalten. - Um die Wirkung der Abwehr-Fermente bei den Reaktionen möglichst auszuschliessen, empfiehlt sich ein Verdünnen solcher Sera oft mit der zehnfachen Menge physiologischer Kochsalz-Lösung. Die Reaktionen bleiben dann gut und besitzen nicht die durch die Alexine zum einen Teil, durch die übergrosse Menge von Immunkörpern zum andern Teil bedingte übertriebene Reichweite, mit der fast nichts anzufangen ist, wenn es sich um genauere Anreihungen der Formenkreise handelt. - Gewinnt ein solches überaus weit tragendes Serum durch einfache Kochsalz-Lösungs-Verdünnung die erwünschten Eigenschaften einer differenzierten Reaktion auf die nahen Verwandten, so bekommt auch der Anfänger in der Serologie, der ratlos vor der Erscheinung gestanden hatte (wir selbst haben früher uns oft mit ihr herumgequält) völliges Vertrauen zu der Methode.

Auch bei eingetretenen Todesfällen der Versuchstiere haben wir nun gelernt, unter Umständen das Ergebnis nicht fahren zu lassen, sondern noch einiges wenigstens zu retten. Man öffne das Tier und entnehme das Blut aus dem Herzen. Es wird meist sehr stark hämolytisch sein. Daraus abzentrifugiertes Serum versetze man mit 10 Teilen physiologischer Kochsalz-Lösung, füge Normal-Serum etwa in Menge 1 : 10 zu und mache Probelut-Reaktionen. Neben dem Antigen, mit dem geimpft worden war, setze man gleich zwei Proben mit an, die nach ihrer verwandtschaftlichen Stellung nicht reagieren können und zwei, welche nach ihrer Position im serologischen Stammbaum vielleicht gerade eben noch reagieren könnten. Tritt nun in den Kontrollen keine Reaktion ein, dagegen in dem Impf-Antigen und vielleicht noch in den beiden andern Gläsern, so ist das Serum verwendbar. Je nach seiner Reichweite kann man es zu den definitiven Verwandtschafts-Versuchen mehr oder weniger verdünnen. Nur achte man darauf, dann auch stets in Form von Normal-Serum Komplement

beizugeben. - Mit manchen Seren mussten wir Verdünnungen 1 : 200 anstellen, um eine brauchbare Differenzierung der Reaktionen zu erzielen. - Nach diesem Rezept wird man auch beim Auftreten übergrosser Immunitäten (übergrosser Reichweiten, siehe oben), insbesondere bei "überspritzten" Tieren verfahren, und auch diese Sera noch für die Untersuchung retten.

Ist aber bei dem gewonnenen Serum ein plötzliches Sinken der Reichweite zu beobachten, oder ergeben sich Trübungen auch mit den Kontrollen, die nach ihrer systematischen Stellung unmöglich reagieren können, so rührt dies von dem übergrossen Gehalt an Alexinen und der von diesen bewirkten Immunkörper-Bildung in vitro (siehe oben) aus den zugegebenen fremden Eiweiss-Stoffen her. Ein solches Serum ist unbrauchbar.

Wir haben früher uns sehr grosse Mühe gegeben, Sera aufzubewahren, um sie für Nach- und Kontroll-Untersuchungen zur Verfügung zu halten. Dabei haben wir in uns damals übersehbarer Weise sehr wechselnde Erfolge gehabt. Jetzt wissen wir, dass nicht hämolytische Sera sich unter Umständen ganz gut halten, unter keinen Umständen aber hämolytische. Diese besitzen meist einen zu grossen Gehalt an Abwehr-Fermenten und geben trotz Karbolsäure und allen andern angewendeten Mitteln nur zu bald mit sich selbst Fällungen, weil in einem gewissen Grade, wie oben dargelegt wurde, auch aus dem eigenen Eiweiss Immunkörper erzeugt werden, die dann das eigene Eiweiss fällen. Da im allgemeinen die Masse der im Serum vorhandenen Eiweiss-Körper sehr gross ist, so wirken sie als Schutz-Kolloid, und es kann zu keiner Fällung kommen. Dies ist aber nicht der Fall bei den zu stark abbauenden, insbesondere den hämolytischen Seren.

#### REAKTIONEN MIT "KUNSTSEREN"

Dass die oben angemerkte Möglichkeit, ohne lebende Versuchstiere (also mit Blutserum z.B. vom Schlachthof) Immunsera zu erzeugen, eine praktische Bedeutung besitzen kann, sei besonders bemerkt; für diese Methode wurde der gesetzliche Schutz bereits nachgesucht.

Diese Erzeugung von "Kunstsera" wird von uns für unsere Untersuchungen in folgender Weise vorgenommen:

Je nachdem man hohe oder niedere Immunisations-Titres erreichen will, ist das Vorgehen etwas verschieden.

Ist ein niederer Titre erwünscht, und dies ist in dem Stadium, in welchem sich unsere Untersuchungen (bei denen es nun hauptsächlich darauf ankommt, die Details in die bereits in grossen Zügen festgelegten Stammbaum-Zweige einzuzichnen) gegenwärtig befinden, fast immer der Fall, dann gibt man in ein Glas 2 ccm Antigen-Extrakt 1 : 200 und 0,8 - 1,6 ccm absolut klares, nicht hämolytisches Rinder-Serum; Zur Kontrolle stellt man daneben ein Extrakt-Glas mit 2 ccm Extrakt und 0,8 bis 1,6 ccm physiologische Kochsalz-Lösung sowie als zweite Kontrolle noch 2 ccm physiologische Kochsalz-Lösung mit 0,8 - 1,6 ccm des Rinder-Serums. Man richtet die ganzen Versuche so ein, dass in jedem Glas 0,5 % Phenol vorhanden ist. Eine so starke Konzentration des Desinfektions-Mittels ist in unserm Falle unbedingt notwendig. Ferner empfiehlt sich die Verwendung von wirklich guten Glas-Geräten und deren Sterilisation.

Nun beobachtet man die im Brutschrank stehenden Gemische. Tritt die Bildung von "künstlichem" Immunserum ein, so muss sich in dem Ansatz eine Trübung meist schon am zweiten Tage einstellen, während die Kontrollen noch klar bleiben. Im Verlauf der acht Tage, welche die Erzeugung des "Kunstserums" braucht, kann sich in den Kontrollen eine geringe Trübung einstellen, aber sie erreicht meist keine grossen Ausmasse. Derartige Kontroll-Trübungen deuten auf einen sehr grossen Gehalt des Rinderserums an Alexinen; sie weisen auf die Gefahr hin, dass der Titre des Kunstserums sehr hoch wird oder gar, dass auch, neben den spezifischen gewünschten Immunstoffen, Präzipitine aus dem Rinderserum erzeugt werden. Ein solches Serum muss man auf Haltbarkeit nach dem Versetzen mit Rinderserum prüfen.

Bei dem normalen Ablauf der Herstellung der "Kunstsera" hat sich der im An-

fang entstandene flockige Niederschlag geballt oder sich mehr oder weniger vollständig gelöst. Darauf verdünnt man das Serum auf die zehnfache Menge mit karbolisierter physiologischer Kochsals-Lösung. Durch Zugabe von 2 - 8 ccm Rinderserum ersetzt man die verbrauchten Alexine (das "Komplement").

Durch Variation dieser Zugabe hat man es in der Hand, ein Alexin-reiches oder -armes, ein Präzipitin-reiches oder -armes Serum herzustellen. Für jeden Spezialfall ist auszuprobieren, welche Art des Serums am besten wirkt.

Will man dagegen ein hochwertiges Serum erzeugen (was in unserer Stammbaum-Forschung gegenwärtig nur noch selten und erwünscht ist), so nimmt man das Serum eines Kaninchens, das man durch Injektion eines beliebigen fremden Eiweisses zur Alexin-Bildung angeregt hat. Zum Beispiel eignet sich Milch zu diesem Zweck sehr gut. Nach etwa 12 Stunden hat das Blut einen hohen Alexin-Gehalt erreicht. Nun entnimmt man dem Tier die gewünschte Blutmenge aus der Ohrvene und verfährt weiter wie oben angegeben.

Hier trübt sich die Kontrolle eher. - Auf diese Weise kann man auch durch Zusatz stärkerer Extrakte die Bildung grosser Mengen von Immunkörpern erzielen.

Gibt man nun Rinderserum zu, so ist die Gefahr einer allzu grossen Alexin-Menge nicht so gross, da diese Alexine schon "aufgezehrt" sind.

Wir haben gefunden, und dies sei ganz besonders hervorgehoben, dass solche "Kunstsera" für unsere Untersuchungen sich besser eignen, als die natürlichen Sera, weil sie viel besser differenzieren.

Es macht den Eindruck, als ob im lebenden Organismus verändernde Einflüsse auf die Immunkörper einwirken, die im toten Serum nicht auftreten. Doch sei dies nur mit aller Reserve hier angeführt; wir haben den Eindruck, als ob die ganze Sache mit den "Kunstsera" einfacher, übersichtlicher verlaufe.

Der allergrösste Vorteil aber, den die Einführung der "Kunstsera" gebracht hat, beruht darauf, dass die direkte Vergleichbarkeit der Versuche erheblich gesteigert wurde. Die bei den bisher notwendigen verschiedenen Immunisationen stets vorhandenen, aber nie berechenbaren individuellen Differenzen der für jede bisherige Immunisation verschiedenen Versuchstier-"Persönlichkeiten" fallen weg. Ein sehr grosses, bisher variables X der Untersuchungen, nämlich die individuellen Sera der Versuchstiere, wird zu Konstanten.

Endlich ist die neue Versuchs-Anordnung mit den "Kunstsera" deshalb von sehr grossem Wert, weil die Kontrollen allgemein viel schärfer werden. Man hat ja nun anstelle des (stets von einem andern Tier stammenden) Normalserums das gleiche Rinderserum in Kontrolle, welches zur Bildung der "künstlichen" Immunkörper Verwendung gefunden hat. Demnach wird nun auch die Wirkung der Alexine bei Versuch wie Kontrolle gleich gesetzt.

Die Zuverlässigkeit der "Kunstserum-Reaktionen" ist in unserm Institut durch eine sehr grosse Zahl von Versuchen mit "blinden" Ablesungen durch das ganze Pflanzenreich hindurch sicher gestellt; diese Verbesserung der Methode stellt eine derartige Vereinfachung dar, dass durch sie die Sero-Diagnostik ihre grosse Kompliziertheit verliert und, nach einmaligem kurzen Einarbeiten, zum Handwerkszeug jedes Botanikers werden kann.

Ohne Tierhaltung, allein mit vom Schlachthof geholtem Blut, kann man nun systematische Zusammenhänge sero-diagnostisch prüfen; damit ist die Serologie in Wirklichkeit zur "experimentellen", allgemein anwendbaren Systematik geworden. Nur sei hier gleich davor gewarnt, von ihr Antworten auf zu spezielle Fragen, wie z.B. Art-Abgrenzungen, fordern zu wollen! Soweit ist die Methode noch nicht.

Noch grösser wird die praktische Bedeutung der "künstlichen" Immunsera für die gerichtliche Medizin sein. Durch die Herstellung "künstlicher" Immunsera mit minimalen Mengen von Eiweiss-Stoffen wird es nun möglich, die bisher nur einseitigen forensischen Reaktionen auch reziprok zu ergänzen und damit zu sichern. Wird bisher z.B. mit durch Menschenblut als Antigen erzeugtem Tierserum auf Menschenblut-Spritzen reagiert und bei positivem Ausfall der Reaktion die Diagnose gestellt, so kann nun auch aus einem Blutspritzen das "Kunstserum" gewonnen und mit diesem reziprok die Gegenreaktion angestellt werden. Die von uns in der Botanik von An-

fang an aufgestellte Forderung, dass nur solche Ergebnisse zu werten sind, die auch reziprok bestätigt sind, wird nun auch in der forensischen Medizin erhoben werden können. Dass dadurch die Sicherheit der Diagnose erheblich gesteigert wird, leuchtet ein.

Ferner wird die forensische wie die botanische Serologie aus den "Kunstsera" den grossen Vorteil ziehen, dass man nun keine vorrätigen Sera mehr braucht, sondern sich jederzeit die gewünschten Immunsera selbst leicht, ohne Versuchstiere, herstellen kann, um mit ihnen die Reaktionen anzustellen.

Die in der Praxis wohl bekannte und oft hinderliche Erscheinung, dass sich die vorrätig gehaltenen Sera getrübt haben und in ihrer Wirkung unzuverlässig geworden sind, wird damit ausgeschaltet.

#### ÜBER GIFTWIRKUNGEN PFLANZLICHER EIWEISS-STOFFE.

Zum Schluss wollen wir noch aus dem Bestand der Beobachtungen unseres Institutes einige Erfahrungen über die Giftwirkungen pflanzlicher Eiweiss-Stoffe bei deren Injektion in die Blutbahn von Kaninchen mitteilen. Diese unter für unsere Untersuchungen nutzloser Aufopferung von viel Arbeit zu unserm Bedauern gewonnenen Kenntnisse haben vielleicht auch ein gewisses Interesse.

Mit dem Nachweis der überaus stark toxischen Wirkung sehr vieler Pflanzen-Eiweiss Stoffe wird der oben zitierte BUCHNERSche Satz, dass die Antitoxine nichts sind als abgebaute Toxine, strikte bewiesen.

Eine der für Immunisationen unangenehmsten Gruppen waren die Coniferen, ganz besonders die Taxaceen und Gnetaceen. Aber bei ihnen dürften sich die eingetretenen grossen Tier-Verluste vornehmlich auf Alkaloide zurückführen lassen; denn sobald wir mit weinsäurem Alkohol die Extrakte bereiteten, war die Schwierigkeit behoben.

Daraus ist für uns zu lernen gewesen, dass die älteren Beobachtungen über Giftwirkungen von Einspritzungen keineswegs immer auf giftige Eiweiss-Stoffe zu deuten waren. Weder Alkohol noch Äther entfernen z.B. die Alkaloide; erst mit zugesetzter Weinsäure ist dies zu erreichen, und diese wenden wir erst neuerdings an.

Immerhin lassen sich auch aus früheren Untersuchungen Beispiele herauschälen, bei denen sicher nicht als toxisch bekannte Stoffe, sondern Eiweiss-Stoffe die Ursache der Tier-Verluste waren.

Wir erinnern daran, dass tierische tote Fremd-Eiweisse gleichfalls (wie es scheint, ganz allgemein) toxische Eigenschaften entwickeln. Vom Aal-Serum ist dies besonders bekannt (vergleiche WEISS in PFLÜGERS Archiv LXV (1896), p.215 ff).

Ob tatsächlich die intensivsten Giftwirkungen von den Eiweiss-Stoffen solcher Pflanzen ausgeübt werden, welche im serologischen Stammbaum auf dem Stamm selbst oder in der Nähe der Basis seinen Auszweigungen stehen, sei vor der Hand noch dahingestellt. Die Ergebnisse mit den von toxischen Stoffen freien Formkreisen *Ricciella*, *Psilotum*, *Elaeocarpus* etc., welche auf die Kaninchen verheerend wirken, könnten so gedeutet werden. Doch widerspricht dem z.B. die gleichfalls enorme Eiweiss-Giftigkeit von *Rhododendron*, welches als Ericacee am Ende des Columniferen-Zweiges steht.

Bei *Phytolacca* versagten nach MALLIGSON sämtliche Extraktionsmittel derart, dass die Kaninchen alle nach kürzester Zeit eingingen und ein Immunsorum nicht gewonnen werden konnte.

Selbst bei sonst ganz harmlosen Pflanzen, wie *Melandryum* und *Pisum* (!!), die ja von den Tieren als Nahrung in beliebigen Mengen gefressen werden, beobachteten wir das Verenden oft nach lächerlich kleinen Dosen.

Obgleich aus *Aesculus* das Aesculin völlig beseitigt war, gingen die Tiere wenigstens nach folgenden Spritzen stets ein: das Blutbild war in diesem Fall nicht (wie dies nach einem Saponin-Körper erwartet werden dürfte) hämolytisch.

Bei *Dipsacus laciniatus* krepiereten Tiere auf ein zu 1 : 10 verdünntes Extrakt. Die sonst völlig ungiftigen Formen *Viola tricolor*, *Typha latifolia*, *Aframomum*

*Melegeta*, *Elettaria* sowie das oben bereits erwähnte *Rhododendron* beförderten die Versuchstiere bereits nach den ersten, ganz schwachen Injektionen ins Jenseits.

Obwohl WORSECK die sonst harmlosen *Allium Cepa*, *Iris* und *Canna* mit allen möglichen Mitteln vor der Injektion der Extrakte behandelte, bekam er grosse Tierverluste. Dabei möchten wir daran erinnern, dass man die *Iris*-Rhizome den Wickelkindern zum Durchbeissen der Zähne umhängt, was doch sicherlich für deren Ungiftigkeit spricht, wenn natürlich auch der Mensch und das Kaninchen in toxikologischer Beziehung nicht identisch sind.

Dass es tatsächlich die Eiweiss-Stoffe und nicht Coffein resp. Theophyllin sind, welche die Tiere ums Leben bringen, zeigen die verhältnismässig unschädlichen Samen von *Coffea* im Vergleich mit den ungeheuer giftigen Samen von *Thea*.

Weitere Pflanzen, die unverhältnismässige Verluste an Versuchstieren brachten, waren *Menispermum*, *Arctostaphylos*, *Empetrum*, *Persea indica*; auch bei ihnen brachten Vorbehandlungen eingreifender Art keinen Erfolg und die Tiere gingen ein.

Ganz besonders traten nun aber die Verluste hervor, wenn die (mit allen Mitteln extrahierten) Pflanzenstoffe als Aufschwemmungen appliziert wurden. In diesen Fällen ist auch eine genauere Angabe über die Quantität der verwendeten Substanz möglich.

Nachdem mit Aufschwemmung von 0,05 g *Psilotum triquetrum* sofortiger Tod des Versuchstieres eingetreten war, wurde ein weiteres, sehr kräftiges Tier mit einer Suspension von 0,02 g in physiologischer Kochsalz-Lösung behandelt. Unmittelbar nach der Injektion stellte sich ein enormer Schock ein, der aber in den nächsten Tagen abklang. Nach zwei weiteren Tagen erhielt dasselbe Tier 0,04 g; es reagierte wieder sehr heftig und ging an diesem Schock innerhalb 24 Stunden ein, ohne dass es möglich war, eine Notschlachtung vorzunehmen. Doch wurde das verendete Tier geöffnet und aus dem Herzen noch ungeronnenes Blut entnommen. Dies ergab ein Serum von ungemein hohem Titre; da wir darin einen grossen Alexin-Reichtum vermuteten, verdünnten wir dies *Psilotum*-Serum 1 : 20 und dennoch reagierte es herunter bis zu den Ulotrichalen, herauf durch die ganzen Filicalen und bis zu den niedersten Angiospermen.

Ein *Rhodiola*-Tier von STEINECKE hatte nach 5 Spritzen von trübe verwendeten Extrakten eine Immunität von 1 : 51 200.

Bei unsern *Rhodiola*-Versuchen (MIELINSKI) führten 0,05 g als Suspension gegeben, prompt zum Tode; bei 0,02 g in gleicher Weise appliziert machten sich die schwersten Krankheits-Erscheinungen geltend.

Die gleichen Eiweisse dagegen, dem Fressen der Tiere zugesetzt, werden in enormen Dosen ohne weiteres ertragen.

Für unsere eigenen, menschlichen Verhältnisse hat vielleicht folgendes Interesse: unsere beliebtesten Speisepilze, wie *Boletus bulbosus* und *Cantharellus cibarius* werden in ungeheuren Mengen zum Markt gebracht und gegessen, ohne dass Schädigungen auftreten; in manchen Gegenden werden Pilze feinst gepulvert als Gewürze verwendet; in diesem Fall steht es sicherlich fest, dass diese Pilze nicht völlig unverdaut den Darm wieder verlassen, denn wenn auch nur eine geringe Menge davon resorbiert wird, so ist es jedenfalls doch ganz ausserordentlich viel mehr, als was nach unsern Erfahrungen von diesen Pilzen ins Blut gebracht, als tödliches Gift wirkt. Denn sowohl von *Boletus bulbosus* wie von *Cantharellus cibarius* wirkten 0,04 g, trotz vorheriger Behandlung mit Alkohol-Weinsäure und Äther, als Aufschwemmung verwendet, auf sehr kräftige Tiere prompt tödlich. Nachdem bei *Cantharellus* ein mit 0,03 g behandeltes Tier gleichfalls eingegangen war, musste ein mit nur 0,02 g gespritztes starkes Kaninchen nach 23 Stunden notgeschlachtet werden, kruz bevor es verendete. Obgleich dieses Tier nur eine einzige Spritze bekommen hatte, lieferte es in der kurzen Zeit ein Serum von sehr schöner Reichweite.

Bei diesen mit Pilzen angestellten Versuchen hatten wir nur dann Aussicht auf sicheren Erfolg, wenn wir mit Dosen von 0,01 begannen; schon auf diese geradezu

lächerlich kleinen Mengen erfolgten "idiosynkratische" Reaktionen starker Art, bei jeder Steigerung der Dose bei folgenden Injektionen die schlimmsten "anaphylaktischen" Erscheinungen, und die Tiere magerten rapide zu Skeletten ab.

Dies zeigt, wie energisch die durch die erzeugten Alexine durchgeführten Abbau-Prozesse auf die Tierkörper einwirkten.

Des Interesses halber fügten wir die allerfeinst verteilten Pilzpulver von *Catharellus* und *Boletus* dem Trinkwasser der Versuchstiere zu; Störungen irgend welcher Art erschienen nicht. Dies war schon von dem Gesichtspunkt aus nicht merkwürdig, weil die Kaninchen andauernd in ihrer Darmflora grosse Mengen von Pilzen (Zygomyceten) führen und demnach andauernd Gelegenheit haben könnten, Pilz-Eiweiss aufzunehmen.

Wir hatten daher anfänglich gefürchtet, durch diesen Umstand vielleicht schlechte resp. unzutreffende Differenzierungen bei unsern Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Pilzreihe zu bekommen. Es hat sich herausgestellt, dass diese Befürchtung unzutreffend war: Nicht die Spur einer Einwirkung der Pilzflora des Darms auf die Blut-Beschaffenheit konnte nachgewiesen werden.

Bedenkt man, dass in solchen injizierten Pulvern die Eiweiss-Körper ca. 1/10, die völlig wirkungslosen Zellwände aber 9/10 der Masse ausmachen, so kommt die Giftigkeit der Eiweiss-Körper an die Intensität heran, mit der z.B. Tuberkulin auf spezifisch überempfindliche Gewebe einwirkt.

Dies erinnert an die Erkenntnis der Tierphysiologen, dass im Verdauungs-Traktus niemals Eiweiss-Stoffe der Nahrung als solche, sondern stets deren bis zu den Amino-Säuren heruntergehende Abbau-Produkte aufgenommen werden.

In der Tier-Physiologie wird dafür als Grund angesehen, dass eben jedes Tier sein eigenes Eiweiss aufbauen muss, und dies aus den Abbau-Produkten der Nahrung ohne jede Schwierigkeit, ohne irgend welchen erheblichen Energie-Verlust auch zu tun imstande ist.

Dies mag ohne Zweifel richtig sein; nur erscheint es uns nicht als volle Erklärung der Entstehung der bekannten Tatsachen. Denn ein abgehungerter Hund füllt, obgleich er Hundefett besitzt wie er Hunde-Eiweiss hat, seine geleerten Magazine bei Fütterung mit Pflanzenfetten zunächst mit diesen auf und wandelt sie dann erst allmählig in Hunde-Fett um.

Uns scheint der primäre Grund für den weitgehenden Abbau der aufzunehmenden Eiweiss-Stoffe in deren sehr vielfach vorhandenen enormen Giftigkeit zu liegen; nicht ohne Grund ist von den Protisten mit ihrer Nahrungs-Vakuolen-Wand ab bis zu den höchsten Tieren herauf die Eiweiss-Nahrung mit einer Wand umgeben, welche nur die weitgehend abgebauten Stoffe durchlässt, also das eigene Eiweiss des Organismus vor den Eiweiss-Stoffen der Nahrung schützt.

Vereinzelt finden sich unsere Anschauungen auch bei medizinischen Autoren.

Wir sind uns dessen bewusst, dass derartige "Zweckmässigkeits-Anschauungen" nicht mit den heute in Mode stehenden Meinungen übereinstimmen, machen aber darauf aufmerksam, dass gerade in diesem Falle die Entstehung der "Zweckmässigkeit" durch Selektion, d.h. durch Tod der sich "unzweckmässig" verhaltenden Tiere, ihre kausale Erklärung finden kann.

Dass, wie bekannt ist, und wie wir mit der Herstellung unserer "Kunst-Sera" noch besonders gezeigt haben, auch im Blut ein Eiweiss-Abbau erfolgt, bezieht sich im normalen Leben des Tieres auf seine eigenen, im Verlauf des Lebens zugrunde gehenden Eiweiss-Stoffe; dazu kommt selbstverständlicher Weise noch die enorme Bedeutung, welche solche Vorgänge bei der Bekämpfung gelegentlich ins Blut kommender Infektions-Erreger haben.

Es wird nicht anzuzweifeln sein, dass der normale Abbau eigenen Eiweisses es mit für das betreffende Tier "ungiftigen" Eiweiss-Stoffen zu tun hat; bei dem Abbau von Bakterien handelt es sich um die Abwehr gegen (absolut genommen) ganz mi-

nimale Mengen, welche dabei oft die schwersten Symptome auslösen.

Ganz anders ist es mit den Nahrungs-Eiweiss-Stoffen: sie sind in so grossen Quantitäten notwendig, dass sie unter keinen Umständen im Körper selbst verdaut werden können, sondern dass, gemäss ihrer oben angegebenen Giftigkeit, ihr Abbau ausserhalb des Körpers, in den Verdauungs-Bahnen stattfinden muss.

Werden nun die bei unsern Versuchen ins Blut eingespritzten Eiweiss-Stoffe im Blut abgebaut, so geschieht dies durch unter ihrem Reiz in erhöhtem Masse gebildete Abwehr-Fermente.

Diesen Abwehr-Fermenten fallen nun aber nicht nur die artfremden Stoffe, sondern auch ein Teil der art-eigenen zum Opfer. Der rapide Verfall der Versuchstiere zeigt dies.

Es findet ein erhöhter Verbrauch von Eiweiss-Stoffen statt, der sich in verstärktem Stickstoff-Gehalt des Urins quantitativ ausspricht.

Die verstärkte Atmung, welche unmittelbar nach der Injektion stark wirkender Eiweiss-Stoffe bei Idiosynkrasie und Anaphylaxie augenscheinlich wird, zeugt von einer Reizung des Atemzentrums. Es dürfte kein Zufall sein, dass das Blut solcher idiosynkratischer oder anaphylaktischer Tiere stark Kohlensäure-haltig und dunkelfarbig ist, wie auch bekannt ist, dass das Atemzentrum auf eine erhöhte Kohlensäure-Menge im Blut reagiert.

Die Tiere machen einen dyspnoischen Eindruck. Man möchte glauben, dass die Abwehr-Fermente eine grosse Menge von Substanz abbauen und dadurch unmittelbar die erhöhte Atmung erzeugen.

Ob dadurch eine Erklärung der "asthmatischen Phänome" bei Idiosynkrasie resp. Anaphylaxie angebahnt wird, das zu untersuchen, muss berufenerer Stelle überlassen bleiben; doch wird es auch dem Botaniker, der viel derartiges gesehen hat, nicht verwehrt bleiben dürfen, sich über das Gedanken zu machen, was ihm unter die Augen kommt.

Vielleicht sind diese Dinge auch schon völlig geklärt: dann verzeihe man uns Botanikern, dass wir in der medizinischen Literatur nicht genügend Bescheid wissen.

Noch viele weitere Tatsachen, die den Medizinern wohl bekannt sind, könnten wir hier anführen, um unsern Standpunkt zu begründen, dass wir einen Unterschied zwischen "Idiosynkrasie" und "Anaphylaxie" zu machen nicht fähig sind; unsere vielen, leider den Versuchstieren oft so verderblichen Versuche mit den Pflanzen-Eiweiss-Stoffen haben uns zu dieser Überzeugung genötigt.

Dass dieselbe auch von berufener medizinischer Seite geteilt wird, beweist die Stellungnahme von DOERR auf der Innsbrucker Naturforscher-Versammlung.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte Botanik](#)

Jahr/Year: 1925

Band/Volume: [12](#)

Autor(en)/Author(s): Mez Carl, Ziegenspeck Hermann

Artikel/Article: [Zur Theorie der Sero-Diagnostik 163-202](#)