

(Aus dem Forensischen Institut [Direktor: Prof. Dr. *M. Takayama*] der medizinischen Fakultät der kaiserlichen Kyushu-Universität zu Fukuoka, Japan.)

## Über die menschlichen Isohämolysine.

Von  
Dr. S. Higuchi.

### Vorwort.

Seitdem *Maragliano* im Jahre 1892 als erster entdeckt hat, daß in den Sera von an Anämie, Krebs, Nephritis und Malaria Erkrankten Stoffe vorhanden sind, die Blutkörperchen lösen und das Hämoglobin in Hämatoïdin verwandeln, und seit *Ehrlich* und *Morgenroth* bei Ziegen auf experimentellem Wege Isohämolysin erzeugt haben, hat die Frage betreffend das Vorhandensein von Isohämolysin endlich ihre Klärung gefunden. Danach haben *Lo Monaco-Panichi*, *Grixoni* usw. behauptet, daß im Blut von Infektionskranken Isohämolysin vorkomme. *Eisenberg* und *Ascoli* haben das gleiche bestätigt. *Leiner* hat festgestellt, daß es sehr stark im Blut von diphtheriekranken Kindern auftritt. Danach haben zahlreiche amerikanische Gelehrte, besonders *Crile*, die Behauptung aufgestellt, es sei spezifisch den Krebserkrankten eigentümlich. *Agazzi* hat beobachtet, daß es bei Gesunden gar nicht oder fast gar nicht auftritt, doch hat er es oft im Serum von Kranken beobachtet. Dagegen haben *Landsteiner* und *Leiner* aus der Tatsache, daß es auch im Serum von gesunden Kindern vorkommt, den Schluß gezogen, es trete vermutlich physiologisch auf. *Moreschi* und *Landsteiner-Leiner* stellten die Behauptung auf, daß ebenso wie zwischen dem Blut verschiedener Tiere Heterohämolyse physiologisch vorkommt, dies auch physiologisch zwischen dem Blut verschiedener Menschen zutrifft. Ferner haben *Moss* und *Grafe-Graham* die Beziehungen zwischen Isohämoagglutinin und Isohämolysin untersucht und haben gefunden, daß beide bis zu einem bestimmten Grad gleichzeitig nebeneinander in demselben Blut vorkommen. Sodann haben *Bezzola*, *Moreschi* und *Eisenberg* gemeint, daß inaktives Isohämolysin nicht wieder aktiv werden könne, während *Moss* behauptet, es könne doch wieder aktiv werden, wenn ihm als Komplement Meerschweinenserum oder Menschenserum zugesetzt werde. Diese Frage ist bisher noch ungeklärt geblieben.

Auch der Verfasser hat sich mit der Untersuchung des Isohämolysins beschäftigt und ist dabei zu den nachstehenden Ergebnissen gelangt:

### I. Über die in meinen Experimenten angewandten Methoden.

#### 1. Methode, Blutkörperchen und Serum zu gewinnen.

Nachdem der Vena mediana Blut entnommen worden ist, gießt man einen Teil davon in eine physiologische Kochsalzlösung, welche 1% Natriumcitrat ent-

hält und durch die Zentrifugiermaschine 3 mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen wird, und stellt eine 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung her. Das Serum wird dadurch gewonnen, daß es zentrifugiert wird, nachdem es sich bei Zimmertemperatur von selbst vom Blutkuchen getrennt hat.

## 2. Hämolysen.

a) *Isohämolysen*. Man mischt behutsam 0,5 ccm Aktivserum und 0,25 ccm einer 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung und setzt das Gemisch 2 Stunden lang in den 37° C warmen Brutofen hinein. Danach stellt man es bis zum nächsten Morgen in eine Eiskammer von 4° C und untersucht dann das Resultat.

Man mischt vorsichtig 0,5 ccm Inaktivserum und 0,25 ccm einer 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung und als Komplement 0,25 ccm frisches Aktiv-Menschen-serum vom Typus AB und behandelt das Gemisch ganz nach demselben Verfahren wie oben.

b) *Heterohämolysen*. Man mischt sorgfältig 0,5 ccm Aktiv-Menschen-serum und 0,25 ccm von 5proz. Heteroblutkörperchenaufschwemmung und setzt das Gemisch 2 Stunden lang in den 37° C heißen Brutofen hinein, worauf man das Resultat untersucht.

Man mischt vorsichtig 0,5 ccm Inaktiv-Menschen-serum und 0,5 ccm von 5proz. Heteroblutkörperchenaufschwemmung und als Komplement 0,5 ccm 13fach verdünntes, frisches Aktiv-Meerschweinchen-serum, setzt das Gemisch 2 Stunden lang in den 37° C warmen Brutofen und untersucht dann das Resultat.

## 3. Hämoagglutination.

a) *Isohämoagglutination*. Untersuchungsmethode mittels Agglutinationsplättchen. Man mischt behutsam 2 Tropfen Aktiv-Menschen-serum und 1 Tropfen 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung und läßt das Gemisch 30 Minuten lang bei Zimmertemperatur. Danach prüft man das Resultat. Wenn Isohämolysen stattfindet, fügt man noch 1 Tropfen Blutkörperchenaufschwemmung hinzu.

Untersuchungsmethode mittels kleiner Reagensgläser. Man mischt 0,5 ccm Inaktivserum und 0,25 ccm 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung gut durcheinander und läßt die Mischung 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur, worauf man das Resultat prüft.

b) *Heterohämoagglutination*. Man mischt vorsichtig 0,5 ccm Inaktiv-Menschen-serum und 0,25 ccm 5proz. Heteroblutkörperchenaufschwemmung. Nach 2 Stunden Brutofen (37° C) prüft man das Resultat.

## 4. Absorptionsversuch.

Die im Absorptionsversuch gebrauchten Blutkörperchen werden durch Methode 1 gewonnen und sodann möglichst von den wässerigen Teilen befreit.

## II. Vergleich der Resultate der mittels verschiedener Methoden unter denselben Bedingungen erzielten Isohämolysen.

Die beim Experiment gebrauchten Sera vom Typus A sind von demselben Menschen gewonnen. Ebenso sind die Blutkörperchen vom Typus B, welche in dem Experiment gebraucht worden sind, alle von demselben Menschen genommen.

*Methode 1*. Nachdem man 1,0 ccm Aktivserum und 1,0 ccm Blutkörperchenbrei von demselben Blut, die beide bei 0° C abgekühlt worden sind, gut gemischt

hat, setzt man das Gemisch 40 Minuten lang in eine Eiskammer von 0° C. Danach zentrifugiert man es und prüft dann die hämolytische Kraft der obenstehenden Flüssigkeit. Man mischt 0,5 ccm der obenstehenden Flüssigkeit und 0,25 ccm 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung sowie 0,25 ccm physiologische Kochsalzlösung und setzt das Gemisch 2 Stunden lang in den 37° C warmen Brutofen hinein. Danach stellt man es bis zum nächsten Morgen in eine Kühlkammer von 4° C und untersucht dann das Resultat.

*Methode 2.* Man mischt 0,5 ccm einer Flüssigkeit, welche aus 1,0 ccm Aktivserum und 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung gewonnen worden ist, mit 0,25 ccm 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung und 0,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung und prüft dann die hämolytische Kraft der Flüssigkeit.

*Methode 3.* Nachdem man 1,0 ccm Inaktivserum und 1,0 ccm Blutkörperchenbrei von demselben Blut gemischt und 40 Minuten lang in eine Eiskammer von 0° C gestellt hat, trennt man die obenstehende Flüssigkeit zentrifugal von den Blutkörperchen. Dann mischt man die obenstehenden 0,5 ccm der Flüssigkeit mit 0,25 ccm 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung sowie 0,25 ccm Serum vom Typus AB, das als Komplement gebraucht wird, und prüft sodann die Hämolyse.

*Methode 4.* Man mischt 0,5 ccm Flüssigkeit, welche von 1,0 ccm Inaktivserum und 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung gewonnen worden ist, mit 0,25 ccm 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung und 0,25 ccm Serum vom Typus AB als Komplement und prüft danach die Hämolyse.

*Methode 5.* Das Verfahren ist ganz dasselbe, wie bei der Methode 4 gezeigt wurde. Nur braucht man als Komplement 0,25 ccm 30fach verdünntes Kaninchenserum.

*Methode 6.* Das Verfahren ist ganz dasselbe, wie bei der Methode 4 gezeigt wurde. Nur braucht man als Komplement 0,25 ccm 20fach verdünntes Meerschweinchenserum.

Die hämolytische Kraft, welche nach den 6 Methoden 1—6 unter denselben Mengenverhältnissen geprüft worden ist, ist nach der Methode 1 am stärksten, sodann nach der Methode 2 und darauf nach der Methode 3.

Die hämolytischen Kräfte nach den Methoden 4, 5, 6 sind zwar schwach, doch zeigt sich deutlich Isohämolyse. Natürlich habe ich bei den Methoden 3—6 möglichst genau die Komplementmengen bestimmt und danach untersucht.

Also wird die isohämolytische Wirkung des Serums, aus dem das Autohämagoagglutinin entfernt worden ist, weit stärker als die auf andere Weise behandelten Sera in derselben Verdünnung. Und ich konnte, wie bei den Methoden 4—6 ersichtlich ist, das Inaktivserum, welches Isohämolytin enthält, wieder aktivieren, indem ich zum Inaktivserum Menschenserum, Kaninchenserum oder Meerschweinchenserum als Komplement zusetzte.

### III. Über das Anti-Isohämolytin.

Ich habe frischem Menschenserum, welches 30 Minuten lang bei einer Temperatur von 56° C erwärmt und dadurch inaktiv gemacht

worden war, als Komplement frisches Menschenserum zugesetzt, nämlich ABo Serum, oder Serum von demselben Typus wie die Blutkörperchen, welche bei der Isohämolysie verwendet worden waren. Dann erwies sich, verglichen mit der isohämolysitischen Kraft des ursprünglichen Aktivserums, die isohämolysitische Kraft des Inaktivserums als schwach. In der Annahme, daß diese Schwäche wahrscheinlich von der in dem als Komplement verwandten Serum enthaltenen antihämolysitischen Substanz herrühre, habe ich darauf die nachstehenden Versuche angestellt:

Wenn 0,2 ccm Serum, in dem Isohämolysin enthalten war, nach den Angaben der beifolgenden Tabelle je 0,2 ccm Aktiv- oder Inaktivserum von jedem Typus zugesetzt wurden, und, nachdem es 30 Minuten lang im Brutschrank einer Temperatur von 37° C ausgesetzt worden war, ihm wieder 0,2 ccm einer 2,5proz. Blutkörperchenaufschwemmung zugesetzt wurden, und ebenso wenn das Serum und die Blutkörperchen im gleichen Mengenverhältnis sofort gleichzeitig zugesetzt wurden, und ebenfalls wenn zur Kontrolle statt des Serums physiologische Kochsalzlösung zugesetzt wurde, zeigte die Prüfung der Isohämolysie folgendes Ergebnis (s. Tab. auf S. 432).

Wie aus den obigen Ergebnissen klar hervorgeht, ist dadurch, daß dem Serum, welches das Isohämolysin enthält, Serum von demselben Typus wie die zur Zeit der Isohämolysie verwendeten Blutkörperchen oder AB-Serum zugesetzt worden ist, die Isohämolysie gehemmt worden. Besonders wenn beide Sera vermischt und die Blutkörperchen, nachdem sie 30 Minuten lang einer Temperatur von 37° C ausgesetzt worden waren, zugesetzt werden, ist diese Wirkung noch deutlicher. Die Wirkung aber, welche die Isohämolysie hemmt, stellt sich nicht nur ein, wenn Serum von demselben Typus wie die Blutkörperchen oder AB-Serum zugesetzt wird; auch bei Zusetzung von Serum eines anderen Typus, welches das Isohämolysin ganz entfernt, ist zwar das Serum ziemlich schwach, es hemmt aber doch die Isohämolysie. Noch deutlicher ist die die Isohämolysie hemmende Wirkung, wenn man beide Sera vermischt, nachdem man sie 30 Minuten lang einer Temperatur von 37° C ausgesetzt und dann die Blutkörperchen zugesetzt hat, als wenn beide Sera gleichzeitig zugesetzt werden. Diese die Hämolysie hemmende Wirkung dürfte daher rühren, daß die in den zugesetzten Seren enthaltene Substanz eine antikomplementäre und antiambozeptorische Wirkung hat. Man darf vermuten, daß der isohämolysitische Titer, auch wenn dem Inaktivserum als Komplement Menschenserum zugesetzt wird, wahrscheinlich aus dem Grunde schwächer ist als das ursprüngliche Aktivserum derselben Verdünnung, weil das als Komplement zugesetzte Serum eine antikomplementäre und antiambozeptorische Wirkung hervorgerufen hat.

Isohämolysehaltiges Serum	Zugesetztes Serum	Verfahren	Blutkörperchen	Isohämolyse			
				1.	2.	4.	8.
1. O $\alpha\beta$ Serum Desgl.	+ A $\beta$ Serum (I.)	} 37° C. 30 Min. ausgesetzt	A Blutkörperchen (I.)	+++	+	-	-
	+ A $\beta$ Serum (I.) (inaktiv)		Desgl.	+++	+	-	-
	+ A $\beta$ Serum (II.)		Desgl.	+++	+	-	-
	+ A $\beta$ Serum (II.) (inaktiv)		Desgl.	+++	+	-	-
	+ physiologische Kochsalzlösung		Desgl.	+++	+++	++	+
	+ A $\beta$ Serum (I.)		Desgl.	+++	++	+	-
2. O $\alpha\beta$ Serum Desgl.	+ A $\beta$ Serum (II.)	} sofort	Desgl.	+++	++	+	-
	+ B $\alpha$ Serum (I.)		B Blutkörperchen (I.)	+++	+	-	-
	+ B $\alpha$ Serum (I.) (inaktiv)		Desgl.	+++	+	-	-
	+ B $\alpha$ Serum (II.)		Desgl.	+++	+	-	-
	+ B $\alpha$ Serum (II.) (inaktiv)		Desgl.	+++	+	-	-
	+ physiologische Kochsalzlösung		Desgl.	+++	+++	++	-
3. B $\alpha$ Serum Desgl.	+ B $\alpha$ Serum (I.)	} 37° C. 30 Min. ausgesetzt	Desgl.	+++	++	+	-
	+ B $\alpha$ Serum (II.)		Desgl.	+++	++	+	-
	+ A $\beta$ Serum (V.)		A Blutkörperchen (V.)	±	-	-	-
	+ ABo Serum		Desgl.	+	-	-	-
	+ O Serum		Desgl.	++	+	-	-
	(Nach Entfernung der Isohämolyse)		Desgl.	++	+	-	-
4. A $\beta$ Serum Desgl.	+ B Serum (Nach Entfernung des Isohämolyse)	} 37° C. 30 Min. ausgesetzt	Desgl.	+++	++	+	-
	+ physiologische Kochsalzlösung		Desgl.	+++	++	+	-
	+ B $\alpha$ Serum (V.)		B Blutkörperchen (V.)	++	-	-	-
	+ ABo Serum		Desgl.	++	-	-	-
	+ O Serum		Desgl.	++	+	-	-
	(Nach Entfernung der Isohämolyse)		Desgl.	++	+	-	-
Desgl.	+ A Serum (Nach Entfernung des Isohämolyse)	} 37° C. 30 Min. ausgesetzt	Desgl.	++	+	-	-
	+ physiologische Kochsalzlösung		Desgl.	+++	++	-	-

+++ vollständige Hämolyse; ++ starke Hämolyse; + schwache Hämolyse;  
± undeutlich; - keine Hämolyse.

#### IV. Über die Beziehungen zwischen Isohämolyse und Isohämagoagglutinin.

a) Ich habe zuerst bei 145 verschiedenen Menschen mittels Isohämolyse 9malige Untersuchungen angestellt, und zwar beim 1. Versuch von 19, beim 2. von 19, beim 3. von 19, beim 4. von 10, beim 5.

von 17, beim 6. von 13, beim 7. von 15, beim 8. von 16 und beim 9. von 17 verschiedenen Menschen die Blutkörperchen und das Serum getrennt und dann wieder kombiniert und sie danach klassifiziert. Zugleich habe ich mittels Isohämoagglutination die Bluttypen dieser Menschen festgestellt und die beiden Ergebnisse verglichen.

Klassifikation nach Isohämolysen	Zahl	Klassifikation nach Isohämoagglutination	Zahl
<i>Gruppe I.</i> Blutkörperchen werden von Sera keiner Gruppe gelöst. Serum löst die Blutkörperchen aller anderen Gruppen, ausgenommen die von Gruppe I, V und IX . . . . .	41	Typus O (I.)	45
<i>Gruppe II.</i> Blutkörperchen werden nur von Sera der Gruppen I, III und IX gelöst und Serum löst nur die Blutkörperchen von Gruppe III, IV u. VII.	47	Typus A (II.)	56
<i>Gruppe III.</i> Blutkörperchen werden lediglich von Sera der Gruppen I, II und VIII gelöst. Serum löst nur die Blutkörperchen von Gruppe II, IV, VI und VIII . . . . .	25	Typus B (III.)	27
<i>Gruppe IV.</i> Blutkörperchen werden von Sera aller Gruppen gelöst mit Ausnahme der Gruppen IV bis VIII . . . . . Serum löst Blutkörperchen keiner Gruppe.	17	Typus AB (IV.)	17
<i>Gruppe V.</i> Blutkörperchen werden von Sera keiner Gruppe gelöst. Serum löst auch Blutkörperchen keiner Gruppe . . . . .	3	Typus O (I.)	—
<i>Gruppe VI.</i> Blutkörperchen werden nur von Sera der Gruppen I und III gelöst. Serum löst Blutkörperchen keiner Gruppe . . . . .	8	Typus A (II.)	—
<i>Gruppe VII.</i> Blutkörperchen werden nur von Sera der Gruppen I und II gelöst. Serum löst Blutkörperchen keiner Gruppe . . . . .	2	Typus B (III.)	—
<i>Gruppe VIII.</i> Blutkörperchen werden lediglich von Sera der Gruppen I und III gelöst. Serum löst nur Blutkörperchen von Gruppe III, dagegen alle anderen Blutkörperchen besonders die der Gruppe IV . . . . .	1	Typus A (II.)	—
<i>Gruppe IX.</i> Blutkörperchen werden von Sera keiner Gruppe gelöst. Serum löst nur die Blutkörperchen von Gruppe II und IV, aber nicht die der Gr. III	1	Typus O (I.)	—

Die Isohämolysen verlief bei 130 von den obigen 145 Fällen der Isohämoagglutination parallel, nicht aber in dem Blut der restlichen 15 Menschen. Die mittels Isohämoagglutination festgestellten Bluttypen dieser 15 Menschen sind folgende: Typus O: 4, Typus A: 9, Typus B: 2. Das Blut von 13 Menschen zeigte keine Hämolysen, aber das Blut der restlichen 2 Fälle verhielt sich ganz verschieden: das eine

gehörte dem Typus A an und löste mittelmäßig die Blutkörperchen vom Typus B, aber nicht die Blutkörperchen vom Typus AB; das andere gehörte zum Typus O und hämolysierte gut die Blutkörperchen vom Typus A und AB, aber nicht die Blutkörperchen vom Typus B.

Danach habe ich nochmals durch Isohämolysen das Blut von 70 verschiedenen Menschen untersucht, nach derselben Methode wie bei den früheren Untersuchungen und in 4 verschiedenen Versuchen, nämlich im 1. von 20, im 2. von 18, im 3. von 17 und im 4. von 15 verschiedenen Menschen Serum und Blutkörperchen getrennt und wieder kombiniert und danach klassifiziert.

Klassifikation nach Isohämolysen	Zahl	Klassifikation nach Isohämoagglutination	Zahl
<i>Gruppe I.</i> Blutkörperchen werden von Sera keiner Gruppe gelöst. Serum löst die Blutkörperchen aller anderen Gruppen, ausgenommen die von Gruppe I und V . . . . .	14	Typus O (I.)	18
<i>Gruppe II.</i> Blutkörperchen werden nur von Sera der Gruppen I und III gelöst, und Serum löst lediglich die Blutkörperchen von Gruppe III, IV u. VII	30	Typus A (II.)	36
<i>Gruppe III.</i> Blutkörperchen werden nur von Sera der Gruppen I und II gelöst, Serum löst lediglich Blutkörperchen von Gruppe II, IV und VI. . .	10	Typus B (III.)	12
<i>Gruppe IV.</i> Blutkörperchen werden von Sera aller Gruppen gelöst mit Ausnahme der Gruppen IV bis VII. Serum löst Blutkörperchen keiner Gruppe	4	Typus AB (IV.)	4
<i>Gruppe V.</i> Blutkörperchen werden von Sera keiner Gruppe gelöst. Serum löst Blutkörperchen keiner Gruppe . . . . .	4	Typus O (I.)	—
<i>Gruppe VI.</i> Blutkörperchen werden nur von Sera der Gruppen I und III gelöst; Serum löst Blutkörperchen keiner Gruppe . . . . .	6	Typus A (II.)	—
<i>Gruppe VII.</i> Blutkörperchen werden nur von Sera der Gruppen I und II gelöst. Serum löst Blutkörperchen keiner Gruppe . . . . .	2	Typus B (III.)	—

Die Isohämolysen dieser Sera gingen in 58 von den obigen 70 Fällen mit der Isohämoagglutination parallel, in 12 Fällen aber, nämlich 4 vom Typus O, 6 vom Typus A und 2 vom Typus B, zeigte sich keine Hämolysen.

Also sind die Fälle selten, in denen die Isohämoagglutination positiv, die Isohämolysen aber negativ ist.

b) Um zu bestimmen, ob Isohämolysin und Isohämoagglutinin identische Substanzen sind oder nicht, habe ich ferner folgendes Experiment angestellt:

Einem Serum vom Typus A, welches starke isohämolytische Kraft zeigt, setzt man Blutkörperchen vom Typus B zu und stellt sie in den Brutschrank von 37° C hinein. Man setzt tropfenweise Blutkörperchen dem Serum zu, bis das Serum gerade nicht mehr hämolysiert. Nach vollständiger Hämolyse setzt man das Serum und ebenso das Kontrollserum (welches dadurch gewonnen wird, daß dem ursprünglichen Serum physiologische Kochsalzlösung zugesetzt und es genau so verdünnt wird, wie das zur Hämolyse gebrauchte Serum), 30 Minuten lang einer Temperatur von 56° C aus. Dann prüft man die Isohämoagglutinationsfähigkeit beider Sera mit Blutkörperchen vom Typus B und wobei sich ergibt, daß diese bei beiden ganz dieselbe ist. Somit zeigt das Serum, welches ganz seine hämolytische Kraft verloren hat, denselben Isohämagglutinationstiter wie das Kontrollserum.

Dann sammelt man getrennt in beiden Gläsern die Blutkörperchen, welche schon agglutiniert haben, spült beide mit physiologischer Kochsalzlösung ab, setzt Serum vom Typus AB als Komplement zu und prüft die Isohämolyse. Dabei erkannte ich, daß zwar die Blutkörperchen, welche durch das wie oben behandelte Serum agglutiniert wurden, nicht mehr hämolysieren, daß aber die Blutkörperchen, welche durch das Kontrollserum agglutiniert werden, noch schwach hämolysieren. Ferner habe ich die Beziehungen zwischen Serum vom Typus B und Blutkörperchen vom Typus A untersucht und dabei dasselbe Resultat erhalten.

## V. Über die Arten des Isohämolysins.

Bei der Untersuchung des Blutes der obigen 215 verschiedenen Menschen mittels Isohämolyse bemerkte ich, daß die Isohämolyse mit der Isohämoagglutination meist parallel verlief. Hierauf habe ich die Arten der Isohämolysine und Rezeptoren der Blutkörperchen untersucht, indem ich die *Guthrie-Hucksche* Meinung berücksichtigte, daß es 3 Arten von Isohämoagglutininen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  gibt und dadurch Menschenblut sich in 8 Typen klassifizieren läßt.

1. Mittels Isohämoagglutination festgestelltes Serum vom Typus AB hat kein Isohämolysin.

2. Mittels Isohämoagglutination festgestelltes Serum vom Typus A löst Blutkörperchen vom Typus B und Typus AB. Wenn man mit Blutkörperchen vom Typus B oder Typus AB das Isohämolysin des Serums absorbiert, verliert das Serum seine hämolytische Kraft.

3. Mittels Isohämoagglutination festgestelltes Serum vom Typus B löst Blutkörperchen vom Typus A und Typus AB. Wenn man mit Blutkörperchen vom Typus A oder Typus AB das Isohämolysin des Serums absorbiert, löst das Serum die Blutkörperchen nicht mehr.

4. Mittels Isohämoagglutination festgestelltes Serum vom Typus O löst die Blutkörperchen vom Typus A, Typus B und Typus AB. Auch wenn mit Blutkörperchen vom Typus B das Isohämolysin des Serums adsorbiert wird, hämolysiert das Serum noch die Blutkörperchen vom Typus AB und Typus A; wenn aber das Isohämolysin des Serums mit Blutkörperchen vom Typus AB absorbiert wird, hämolysiert das Serum

die Blutkörperchen nicht mehr. Also gibt es im Serum vom Typus O 2 Arten von Isohämolysinen, von denen die eine die Blutkörperchen vom Typus A, die andere die vom Typus B lösen kann.

5. Die Blutkörperchen vom Typus AB enthalten 2 Arten von Rezeptoren. Die Blutkörperchen der Typen A und B haben jedes eine bestimmte Art von Rezeptoren, die Blutkörperchen vom Typus O haben dagegen keinen Rezeptor.

6. Es gibt 2 Arten von Isohämolysinen und Rezeptoren, ganz wie es 2 Arten von Isohämoagglutininen und Rezeptoren gibt, und allgemein sind Isohämolysin und Isohämoagglutinin parallel im Blute vorhanden.

## VI. Beziehungen zwischen Isohämolysin und Autohämoagglutinin.

Jedem Serum von 12 verschiedenen Menschen, deren Isohämoagglutination und Isohämolysen nicht parallel verlaufen, fügt man körpereigene Blutkörperchen hinzu und setzt es 40 Minuten lang in eine Eiskammer von 0° C hinein. Nach dem Zentrifugieren prüft man die Isohämolysen der obenstehenden Flüssigkeit. In dem Blut von 5 unter den sämtlichen 12 Fällen wurde deutlich positive Isohämolysen beobachtet, die restlichen 7 Fälle waren negativ.

Ich habe außerdem noch mehrere Erfahrungen machen können in bezug auf die hämolytische Wirkung schwach positiver Sera, welche nach Entfernung des Autohämoagglutinins eine stark hämolytische Wirkung zeigten. Die isohämolytische Wirkung des Serums, aus dem das Autohämoagglutinin entfernt worden ist, wird weit stärker als die des nicht so behandelten Serums. Ich glaube, eine der Ursachen davon ist die Entfernung des Autohämoagglutinins, welches als Schutzkolloid gegen die Komplementbindung des Isohämolysins antikomplementär wirkt, und ich glaube, daß zwischen der chemischen Struktur des Autohämoagglutinins und dem Euglobulin innige Beziehungen bestehen, weil die Euglobulin-Kochsalzlösung auch die Blutkörperchen von demselben Blut bei Kälte schwach agglutinieren kann (Autohämoagglutination).

Die Euglobulin-Kochsalzlösung wirkt zwar antikomplementär, verliert aber diese Wirkung, wenn man die Lösung 30 Minuten lang einer Temperatur von 56° C aussetzt.

## VII. Über die Eigenschaften des Isohämolysins.

1. Man gibt in Serum, welches mit Aq. dest. 5fach verdünnt worden ist, 30 Minuten lang CO<sub>2</sub>-Gas und zentrifugiert dann. Solches Verfahren wird solange fortgesetzt, bis kein Niederschlag mehr erscheint. Man spült nun den Niederschlag mit Aq. dest. und löst ihn in physiologischer Kochsalzlösung. Dann setzt man die Lösung 30 Minuten lang einer Temperatur von 56° C aus. Die Lösung zeigt

keine Isohämolysine, auch wenn man Serum vom Typus AB als Komplement hinzufügt.

Man zentrifugiert darauf eine Mischung aus gleichen Mengen von gesättigter Ammonsulfatlösung und Serum und dialysiert beide Teile (den Niederschlag und die obenstehende Flüssigkeit) mit einem Dialysator. Der Niederschlag wird in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, und die obenstehende Flüssigkeit wird bei möglichst niedriger Temperatur ungefähr bis zur früheren Menge abgedampft und dann Kochsalz hinzugefügt, um denselben osmotischen Druck zu erhalten, wie ihn eine 0,85proz. Kochsalzlösung zeigt. Man setzt nunmehr die beiden Flüssigkeiten 30 Minuten lang einer Temperatur von 56°C aus und fügt Serum vom Typus AB als Komplement hinzu. Danach prüft man die Isohämolysine der beiden Flüssigkeiten.

Die Hämolysine der Flüssigkeit, in der der Niederschlag gelöst worden ist (Globulinteil), ist positiv, dagegen ist die der anderen (Albuminteil) negativ. Albuminteil und CO<sub>2</sub>-Euglobulinteil des Serums enthalten also kein Isohämolysin.

2. Das Isohämolysin wird zerstört, wenn man es einer Temperatur von 63°C 20 Minuten lang aussetzt.

### VIII. Über die Beziehungen zwischen Isohämolysin und Heterohämolysin.

1. Ich habe 3 Typen (mittels Isohämoagglutination) von Sera genommen, nämlich: O, A, B. Um das Resultat der Experimente leicht zu erkennen, wählte ich solche Sera, welche möglichst starke Isohämolysine zeigten. Um das Isohämolysin dieser Sera zu entfernen, setzte ich zu je 1,0 ccm Serum der 3 verschiedenen Typen je 1,0 ccm Blutkörperchenbrei vom Typus A und B dem Serum vom Typus AB und den Kontrollsera der anderen Typen aber je 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung zu und ließ alle Sera in ganz derselben Verdünnung anfertigen, und zwar wurde dem A-Serum Blutkörperchenbrei vom Typus B, dem B-Serum solcher vom Typus A und dem O-Serum aus den Typen A und B gemischter Blutkörperchenbrei zugesetzt. Danach habe ich ihre Heterohämolysine gegenüber Blutkörperchen von Kaninchen geprüft.

Alle Sera konnten bis zu 8facher Verdünnung vollständig die Blutkörperchen lösen, und die Reaktion war noch bei 64facher Verdünnung der Sera ganz negativ. Daher glaube ich, daß das Isohämolysin und das Heterohämolysin keine identischen Substanzen sind.

2. Wenn das Isohämolysin im Serum vom Typus A mit Kaninchenblutkörperchen absorbiert wird, löst dieses Serum nicht mehr die Blutkörperchen vom Typus B.

Dagegen löst das Serum vom Typus B, auch wenn man mit ihm in derselben Weise verfährt, noch die Blutkörperchen vom Typus A. Behandelt man jedoch Serum vom Typus O in gleicher Weise, so hämolysiert es nicht mehr die Blutkörperchen vom Typus B. Folglich ist die Affinität der im Serum vom Typus A und Typus B enthaltenen Isohämolysine gegen Kaninchen-Blutkörperchen verschieden. Das Isohämolysin im Serum vom Typus A wird durch Kaninchenblutkörperchen gut absorbiert. Mithin besteht eine Ähnlichkeit zwischen den

Rezeptoren des Blutkörperchens vom Typus B und denen des Kaninchenblutkörperchens.

Das Serum vom Typus A löst die Kaninchenblutkörperchen auch dann noch gut, wenn das Isohämolysin des Serums vom Typus A durch Blutkörperchen vom Typus B ganz absorbiert wird.

### IX. Über den Titer des Isohämolysins und die Beziehungen zwischen diesem und der Wassermannschen Reaktion.

1. Über die hämolytische Kraft der Sera desselben Bluttypus gegenüber Blutkörperchen von demselben Blut eines anderen Typus.

Die hämolytischen Kräfte der verschiedenen Sera vom Typus O gegenüber verschiedenen Blutkörperchen vom Typus A, Typus B und Typus AB sind verschieden. Der höchste isohämolytische Titer eines Serums, den ich beobachtet habe, zeigte in 8facher Verdünnung vollständige Isohämolyse. Mit dem Serum der Typen A und B verhält es sich dabei ganz ebenso wie mit dem Serum vom Typus O.

2. Über den hämolytischen Titer desselben Serums gegenüber Blutkörperchen von verschiedenen Typen.

Die hämolytischen Titer desselben Serum vom Typus O gegenüber Blutkörperchen vom Typus A, Typus B und Typus AB sind ungefähr gleich; doch scheinen die Blutkörperchen vom Typus AB im allgemeinen leichter löslich zu sein, als die übrigen.

3. Über den hämolytischen Titer der beiden Arten von Hämolysinen im Serum vom Typus O.

Im Serum vom Typus O gibt es, wie oben gezeigt wurde, 2 verschiedene Arten von Isohämolysinen, deren Titer ebenfalls verschieden sein können. Das eine Serum dieses Typus löst die Blutkörperchen vom Typus A stärker als die Blutkörperchen vom Typus B, ein anderes löst die Blutkörperchen vom Typus B stärker als die vom Typus A, und noch ein anderes löst die Blutkörperchen vom Typus A und Typus B in ganz gleicher Weise.

4. Über die 2 Arten von Rezeptoren in demselben Blutkörperchen.

Die Blutkörperchen vom Typus AB enthalten 2 Arten von Rezeptoren für Isohämolysine. Diese Blutkörperchen werden durch Sera vom Typus A stärker hämolysiert als durch Sera vom Typus B, und durch Sera vom Typus B stärker als durch solche vom Typus A. Kurz: Der Titer des Isohämolysins und das Vermögen der Blutkörperchen, hämolysiert zu werden, sind individuell verschieden. Daher muß man, um den isohämolytischen Titer des Serums genau zu bestimmen, sagen, ein beliebiges Serum habe gegenüber irgendeinem Blutkörperchen einen gewissen hämolytischen Titer.

Nicht immer hat ein Serum, dessen WaR. positiv ist, einen starken isohämolytischen Titer; es kommen manchmal auch Sera vor, welche,

obgleich ihre WaR. stark positiv ist, fast gar keine Isohämolysen zeigten. Ferner gibt es auch solche Sera, welche trotz negativer WaR. starke Isohämolysine enthalten.

Daher glaube ich, daß zwischen dem Titer der Isohämolysine und der WaR. keinerlei Beziehungen bestehen.

### Zusammenfassung.

1. Die Isohämolysine sind meistens parallel mit den Isohämoagglutininen im Blute vorhanden, und es gibt von den ersteren auch 2 Arten. Mithin muß es auch 2 Formen von Rezeptoren der Blutkörperchen geben. Bei den Sera, deren Isohämoagglutination positiv ist, kann in seltenen Fällen die Isohämolysen negativ sein.

2. Bei Serum, aus dem die Autohämoagglutinine entfernt worden sind, zeigt sich der isohämolytische Titer stärker als beim unbehandelten Serum. Das rührt von der Entfernung der antikomplementären Wirkung der Autohämoagglutinine her.

3. Das Serum, welches durch 30 Minuten lange Erwärmung bei 56° C inaktiv gemacht worden ist, aktiviert wieder, wenn man dem Inaktivserum als Komplement Serum vom Typus AB oder Serum von demselben Typus wie die Blutkörperchen, welche bei der Isohämolysen gebraucht worden sind, oder aber Kaninchenserum oder Meerschweinchenserum zusetzt. Aber die hämolytische Kraft ist weit schwächer als beim ursprünglichen Zustand des Serums.

4. Die Isohämolysen wird gehemmt, wenn man Serum vom Typus AB oder von demselben Typus wie die Blutkörperchen zufügt, welche bei der Isohämolysen gebraucht werden.

Die hemmende Wirkung des Serums wird deutlicher, wenn man die Blutkörperchen erst zusetzt, nachdem das Gemisch 30 Minuten lang einer Temperatur von 37° C ausgesetzt worden ist.

5. Das Isohämolysin befindet sich im Globulinteil, nicht aber im CO<sub>2</sub>-Euglobulinteil oder im Albuminteil des Serums.

Es geht verloren, wenn man es 20 Minuten lang einer Temperatur von 63° C aussetzt.

6. Der Rezeptor des Blutkörperchens vom Typus B ist dem Rezeptor des Kaninchenblutkörperchens darin ähnlich, daß beide das Isohämolysin  $\beta$  absorbieren können.

Aber Isohämolysin und Heterohämolysin sind verschiedene Substanzen.

7. Der Titer des Isohämolysins ist individuell verschieden. Der höchste Titer ist nach meiner Erfahrung das Vermögen, in 8facher Verdünnung die Blutkörperchen vollständig zu hämolysieren.

8. Es bestehen keinerlei Beziehungen zwischen der WaR. und dem Titer des Isohämolysins des Serums.

## Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> *Ascoli*, Münch. med. Wschr. **1901**, 1239. — <sup>2</sup> *Agazzi*, Berl. klin. Wschr. **1910**, Nr 31. — <sup>3</sup> *Bezzola*, Riforma med. **1902**, 174; (Ref. Biochem. Zbl. **1**, 159 1903). — <sup>4</sup> *Crile*, J. amer. med. Assoc. **51**, 2036 (1908). — <sup>5</sup> *Ehrlich-Morgenroth*, Berl. klin. Wschr. **1899**, 481; **1900**, 453. — <sup>6</sup> *Eisenberg*, Wien. klin. Wschr. **1901**, 1020. — <sup>7</sup> *Grixoni*, Gazz. Osp. **1901**, Nr 57; Ref. Zbl. inn. Med. **1901**, Nr 38. — <sup>8</sup> *Grafe-Graham*, Münch. med. Wschr. **1911**, 2257. — <sup>9</sup> *Guthrie-Huck*, Bull. Hopkins Hosp. **34**, Nr 384, 385, 386, 37, 80, 128 (1923). — <sup>10</sup> *Lo Monaco-Panichi*, Riforma med. **1901**; Ref. Zbl. Path. **12**, 338 (1901). — <sup>11</sup> *Leiner*, Jb. Kinderheilk. **1902**, 804. — <sup>12</sup> *Landsteiner-Leiner*, Zbl. Bakter. Orig. **38**, 548 (1905). — <sup>13</sup> *Maragliano*, Berl. klin. Wschr. **1892**, Nr 31. — <sup>14</sup> *Moreschi*, Berl. klin. Wschr. **1903**, 973. — <sup>15</sup> *Moss*, Bull. Hopkins Hosp. **21**, 63 (1910); Folia Serologica **1910**, 267.
-