

freien, durch ein feines Maschennetz von gröberem Partikeln getrennten Zellen in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und mit in physiologischer Kochsalzlösung gelöstem Rizin versetzt werden. Man sieht dann oft schon nach wenigen Minuten sich die Zellen zu gröberem Flocken zusammenballen, während in den Kontrollgläsern nichts derartiges wahrnehmbar ist. Natürlich kann man auch ein passendes Organ, wie z. B. die Leber, nach völliger Entfernung des Blutes mit RINGERScher Lösung, der Rizin zugesetzt ist, durchströmen, wie dies z. B. W. N. WORONZOW¹⁾ getan hat. Die Leberzellen verankern dabei das Gift und die ausströmende Flüssigkeit wird schliesslich ganz giftfrei. In ganz analoger Weise vermögen auch die roten Blutkörperchen das Rizin zu verankern. Davon wollen wir im Kapitel II weiter reden. Hier ist nur erst noch die Frage der Einheitlichkeit oder Nichteinheitlichkeit des Rizins zu besprechen. Für die exakte Chemie ist das Rizin bis jetzt eine chemische Einheit. Da es zwei leicht unterscheidbare Wirkungen, eine agglutinierende im Reagenzglas und eine toxische beim Tierversuch zeigt, so haben CUSHNY,²⁾ FR. MÜLLER³⁾ und andere behauptet, es sei ein Gemisch zweier Substanzen, eines Agglutinins und eines Toxins. Da jedoch die Leberzellen, die von dem hypothetischen Gemisch doch nur das Toxin verankern sollten, auch das Agglutinin der RINGERSchen Flüssigkeit entziehen, und da umgekehrt die Blutkörperchen der Zwischenflüssigkeit nicht nur Agglutinin entziehen, sondern auch deren toxische Eigenschaften ganz ausserordentlich schwächen, so beharre ich vorläufig noch auf meinem von Anfang an eingenommenen Standpunkte, dass der Beweis der Nichteinheitlichkeit des Rizins zurzeit noch nicht einwandfrei erbracht ist.

II. Wirkung des Rizins auf defibriertes verdünntes Blut.

Seit meinen ersten Versuchen mit STILLMARK verfährt man noch heute zur Prüfung der Wirkungsstärke des Rizins am besten in der Weise, dass man frisches Blut z. B. vom Kaninchen vorsichtig defibriert und mit physiologischer Kochsalzlösung

¹⁾ Beitrag zur Frage der entgiftenden Rolle der Leber im tierischen Organismus, S. 55. Diss. Dorpat 1910.

²⁾ Arch. exp. Path. und Pharm. Bd. 41, 1898, S. 439.

³⁾ Ebenda Bd. 42, 1898, S. 302.

50fach verdünnt. Das Blutserum kann vorher durch Zentrifugieren entfernt worden sein; jedoch wirkt bei 50—100facher Verdünnung seine Anwesenheit nicht sehr störend, sondern schwächt nur die Intensität der Wirkung etwas ab. Wiederholtes Waschen und mehrmaliges Abzentrifugieren ist für die Normalität der Blutkörperchen von üblem Einfluss; ich habe diese Reinigungsmethoden daher meist nicht benutzt. P. RONA und D. TAKAHASCHI¹⁾ zeigten, dass dabei den Blutkörperchen z. B. ihr Calcium entzogen wird. Ich lege gerade auf Normalität der Blutkörperchen den grössten Wert. Von der 2%igen Blutkochsalzmischung füllt man in eine Reihe gleichweiter Reagenzgläser je 5 ccm ein. Alsdann setzt man zu einigen Gläschen je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung ohne Rizin, zu den andern dieselbe Menge Kochsalzlösung, aber unter Beimischung steigender Mengen von Rizin. Alsdann werden alle Gläschen vorsichtig einmal umgekehrt und dann unberührt bei Zimmertemperatur stehen gelassen, bis das Rizin sich in den roten Blutkörperchen verankert hat. Dieser Prozess erfordert bei sehr kleinen Dosen bis 18 Stunden. Erwärmen im Brutschrank beschleunigt ihn; jedoch habe ich diese Hilfsprozedur nie angewandt, weil sie auch das Verderben des Blutes begünstigt. Die an der Oberfläche mit Rizin beladenen Blutkörperchen erhalten dadurch klebrige Eigenschaften, haften bald fest aneinander und fallen als siegellackrote Klümpchen rasch zu Boden, wo alle Klümpchen sich zu einer grösseren klumpigen Masse vereinigen, während die darüber stehende Flüssigkeit farblos wird. In den Kontrollgläschen senken sich die roten Blutkörperchen zwar auch zu Boden, aber viel langsamer und ohne aneinander zu haften, so dass man durch leichtes Umschütteln wieder den ursprünglichen Zustand herstellen kann. Nur wenn das Blut autolytisch sich zersetzt oder zu faulen beginnt, tritt auch in dem Kontrollgläschen eine Verklebung der Blutkörperchen ein. Solche Versuche sind natürlich prinzipiell zu verwerfen, weil sie ja eine Unterscheidung der freien Verklebung und der Rizinverklebung unmöglich machen. Im Sommer kommen derartige Störungen, falls man nicht mit ganz frischem oder auf Eis aufgehobenem Blute arbeitet, leicht vor. Man tut unter allen Umständen gut, das Blut wenn möglich sofort nach der Entnahme zu benutzen

¹⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 31, 1911, S. 336.

und möglichst steril zu arbeiten. Blut von narkotisierten Tieren ist am besten ganz zu meiden.

Wohl aber kann man im Notfalle, wenn nur selten frisches Blut zur Verfügung steht, die durch Absetzen aus z. B. Katzen-, Kaninchen- oder Pferdeblut gewonnenen roten Blutkörperchen durch kurzes Eintragen in eine Kochsalzlösung, die 1% Formaldehyd enthält, etwas anhärten und dadurch viel länger haltbar machen als gewöhnliche Blutkörperchen. Schon HIDEYO NOGUCHI¹⁾ hat dies Verfahren mit Erfolg bei Rizinversuchen angewandt. Auch die in den Handel kommenden Hammelblutkörperchen werden in dieser Weise präpariert.

Ich habe durch ELFSTRAND²⁾ für den Prozess der Verklebung der Blutkörperchen bei der Rizinwirkung den Ausdruck Hämagglutination einführen lassen. Ich wollte damit andeuten, dass bei äusserlicher Betrachtung das Phänomen der Bakterienagglutination mit dem der Blutkörperchenagglutination eine gewisse Ähnlichkeit hat. Demgegenüber glauben MIESSNER und REWALD³⁾, der Ausdruck Agglutination der Blutkörperchen dürfte zu falschen Auffassungen Anlass geben, da Agglutination sich auf Verklebung von Mikroben durch Serum beziehe. Wie die genannten Autoren dies behaupten können, nachdem ich den Begriff der Hämagglutination vor vielen Jahren in die Wissenschaft hatte einführen lassen, und nachdem er von den bedeutendsten Forschern längst anerkannt worden ist, ist mir unverständlich. MIESSNER und REWALD wollen den Ausdruck Hämagglutination durch Konglutination ersetzen. Nun sagt aber J. O. SAULI:⁴⁾ „Konglutination ist eine Reaktion, die im Rinder Serum dadurch zustande kommt, dass gleichzeitig Antigen, Antikörper und Komplement zugegen sind.“ Von alledem ist bei unseren Versuchen aber doch keine Rede. Auch nach den Ausführungen von HUGO HECHT⁵⁾ ist die Bezeichnung Kongluti-

¹⁾ The antihaemolytic action of blood sera together with observations upon the agglutination of hardened red corpuscles. University of Pennsylvania Medical Bulletin Nov. 1902.

²⁾ Über Blutkörperchen agglutinierende Eiweisse. Görbersdorfer Veröffentlichungen, herausgegeben von R. KOBERT, erstes Bändchen (Stuttgart 1898), S. 1.

³⁾ Zeitschr. für Immunitätsforschung u. exp. Ther. Bd. 2, 1909, S. 325.

⁴⁾ Ebenda Bd. 9, 1911, S. 359.

⁵⁾ Berliner Klin. Wochenschr. 1912, No. 2, S. 58.

nation nicht im mindesten passender als der von mir gewählte Name Hämagglutination oder Agglutination der roten Blutkörperchen.

Der in den Reagenzgläsern bei Rizinzusatz zu den Blutkochsalzmischungen vor sich gehende Prozess erfordert eine gewisse Zeit, da er in mindestens zwei Phasen zerfällt. In der ersten Phase geht das kolloidale Rizin aus der Zwischenflüssigkeit an die Oberfläche der Blutkörperchen. Zentrifugiert man gegen das Ende dieser Phase und untersucht die abgetrennte klare Flüssigkeit auf Rizin, so zeigt sowohl der chemische als der biologische Versuch, dass die Hauptmenge des Rizins aus der Flüssigkeit verschwunden ist. Die zweite Phase beginnt, sobald die Blutkörperchen sich genügend mit Rizin beladen haben. Ihre Lipoidmembran ist jetzt in ein Rizinlipoid umgewandelt, welches physikalisch grosse Neigung hat, sich an andere Gebilde derselben Art untrennbar fest anzulegen und unter Verlust der eignen Form mit jenen zu verschmelzen. Tausende von Blutkörperchen können sich auf diese Weise zu einem Klumpen zusammenballen, halten aber das eingeschlossene Hämoglobin sowie das Rizin zunächst noch einigermaßen fest; gelockert ist es allerdings schon. War die Rizinmenge viel zu gross, oder werden die Gläschen stark geschüttelt, so wird die Umschliessung des Hämoglobins so mangelhaft, dass als dritte Phase partielle Hämolyse eintritt. Der Niederschlag entfärbt sich dann, enthält aber immer noch das Rizin gebunden. FRAENKEL¹⁾ sah die Hämolyse besonders bei Fischblut; sie kommt aber auch bei andern Blutarten vor, wie LIEBERMANN²⁾ mit Recht betont. Schon zu Beginn der zweiten Phase hat das Gemisch eine Neigung, beim Aufgiessen auf ein Filter auf diesem bzw. zwischen den Maschen seines Gewebes haften zu bleiben, während eine rizinfreie Blutkochsalzmischung durch ein dünnes Filter ebenso konzentriert durchfliesst als sie aufgegossen wird. Man kann daher in zweifelhaften Fällen den Filtrierversuch durch ein trocknes Filter als Kriterium benutzen, ob Agglutination stattgefunden hat. Falls nach dem Durchfliessen das Filter siegellackartige rote Klümpchen aufweist, ist zum mindesten eine partielle Agglutination vorhanden. Falls sie total

¹⁾ HOFMEISTERS Beiträge Bd. 4, 1903, S. 224.

²⁾ Arch. f. Hygiene Bd. 62, 1907, S. 290.

ist, bleiben, wenn nicht beim ersten, so doch beim zweiten Aufgiessen alle Blutkörperchen auf dem Filter, und das Filtrat ist so gut wie blutkörperchenfrei; oft ist es geradezu farblos. Beim Nachweis des Rizins in eiweissreichen Futterkuchen kommt es vor, dass die Agglutination keine feste ist, so dass der Niederschlag im Reagenzglas nur locker zusammengeballt ist und durch Schütteln wieder völlig zerteilt werden kann. Wir werden später sehen, wie zur Sicherung der Diagnose dann weiter zu verfahren ist. Man redet in solchen Fällen wohl von Ausflockung. Ich habe von Ausflockung bei allen meinen Versuchen nur dann geredet, wenn nach leichtem Umschütteln zwar nichts rechtes von Agglutination mit dem Auge mehr wahrnehmbar war, aber dennoch die Filtration ein fast blutkörperchenfreies Filtrat lieferte. Manchmal kam es vor, dass der Bodensatz eines Gläschens wie agglutiniert aussah, aber trotzdem glatt durchs Filter ging. In solchen Fällen muss wohl ein niederer Grad von Agglutination angenommen werden.

Bei der vollkommenen Agglutination durch Rizin und ihm verwandte Stoffe wird der Kochsalzlösung, in der die Blutkörperchen suspendiert sind, das Rizin genau so wie bei dem S. 6 erwähnten Leberdurchströmungsversuch entzogen. Hat man keinen Überschuss zugesetzt, so wird die Zwischenflüssigkeit der Blutkörperchen völlig oder fast völlig giftfrei, während die Blutkörperchen sich damit beladen. Je empfindlicher eine Blutart für Rizin ist, desto mehr vermag sie nach H. RAUBITSCHKE¹⁾ davon zu verankern.

Albumosen und WITTESCHES Pepton hindern das Zustandekommen der Agglutination; ja sie sind nach RAUBITSCHKE²⁾ imstande, bei nachträglichem Zusatz eine Desagglutination herbeizuführen. Sind solche Stoffe aber nicht vorhanden, so kann man aus einem bunten Gemisch von Stoffen, wie ein mit Hilfe von physiologischer Kochsalzlösung bereiteter neutralisierter Auszug aus einem Futterkuchen sie bietet, das etwa darin befindliche Rizin durch Eintragen von roten Blutkörperchen oder — falls man diese nicht hat — von unverdünntem defibriniertem

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforschung und exp. Ther. Bd. 9, 1911, S. 297.

²⁾ H. RAUBITSCHKE, Wiener Klin. Wochenschr. 1909, No. 30. — K. LANDSTEINER und H. RAUBITSCHKE, Biochem. Zeitschr. Bd. 15, 1908, S. 35.

Blute entziehen und fast quantitativ niederschlagen. Der aus der Verbindung der roten Blutkörperchen mit dem Rizin bestehende fest zusammenhängende Niederschlag lässt sich durch Dekantieren von der darüber stehenden rizinfrei gewordenen Auszugsflüssigkeit trennen und mit physiologischer Kochsalzlösung sogar waschen. Den gewaschenen Massen entzieht man jetzt nach dem von v. LIEBERMANN¹⁾ angegebenen Verfahren das verankerte Rizin. Zu diesem Behufe pflege ich pro Kubikzentimeter Blut dem Agglutinat zwei Tropfen verdünnter Salzsäure zuzusetzen und damit energisch zu verrühren. Die Farbe muss dabei aus dem Roten ins Braunschwarze übergehen, d. h. aus Hämoglobin muss Säurehämatin werden. Dieses bildet eine teerige Masse. Binnen 1—2 Minuten pflegt diese Bildung vor sich zu gehen. Wenn nicht, so muss noch ein dritter Tropfen Salzsäure hinzugefügt werden. Sobald Hämatinbildung eingetreten ist, ist man sicher, dass auch die Verbindung des Rizins mit dem Stroma völlig gelöst ist. Man neutralisiert jetzt den Brei durch tropfenweisen Zusatz von Natriumkarbonatlösung. Sobald Neutralität eingetreten ist, bringt man den dunkelbraunen, jetzt mit einem Male feinflockig werdenden Brei auf ein möglichst kleines Filter und wäscht mit physiologischer Kochsalzlösung nach, bis man pro Kubikzentimeter des verwandten Blutes 6 Kubikzentimeter Filtrat hat. Dieses hat bei genauem Einhalten obiger Vorschrift weder eine rote noch eine braune, sondern lediglich eine hellgelbe Farbe und enthält im wesentlichen Kochsalz und Rizin. Hat man Grund anzunehmen, dass viel Rizin in den Futterkuchen war, so verteilt man die 6 ccm auf 3 Reagenzgläschen, welche schon vorher mit je 5 ccm 2%igem Blut beschickt sind. Zwei weitere Gläschen (No. I und V) erhalten ebenfalls je 5 ccm 2%iges Blut und je 5 ccm physiologische Kochsalzlösung. Glas II erhält 3 ccm des wiedergewonnenen Rizins und 2 ccm Kochsalzlösung. Glas III erhält 2 ccm Rizin und 3 ccm Kochsalzlösung und Glas IV 1 ccm Rizin und 4 ccm Kochsalzlösung. Nach einigen Stunden zeigt, falls die Rizinmenge gering war, nur Glas II deutliche Agglutination; falls sie gross war, tritt auch in Glas III und IV die Agglutination sicher auf. Falls man weiteres isoliertes Rizin besitzt, kann man dies für Tierversuche verwenden. Die An-

¹⁾ Archiv für Hygiene Bd. 62, 1907, Heft 4.

nahme, dass das Rizin ein Gemisch von Agglutinin und von Toxin sei, und dass die Blutkörperchen hauptsächlich nur das Agglutinin verankern, nicht aber das Toxin, ist, wie ich schon oben (S. 6) besprach, unrichtig. Demgemäss konnte ich in allen Fällen, wo ich in Futterkuchen merkliche Rizinmengen fand, mit dem aus seiner Blutkörperchenverbindung frei gemachten Rizin nicht nur von neuem agglutinierend wirken, sondern ich vermochte auch stets damit ein Kaninchen zu vergiften, falls ich genügende Mengen von Ausgangsmaterial verwendet hatte.

Sehr wichtig ist, dass bei der Untersuchung minderwertiger, d. h. von Schimmelpilzen und Bakterien zersetzter Futtermittel, wie dies z. B. bei dem vielbesprochenen Bismarck-Prozess der Fall war, nicht nur unter Anwesenheit von Toluol der erste Auszug gewonnen werden muss, sondern dass dieser Auszug nach sorgfältiger Neutralisierung auch noch eine Stunde lang auf 70° erhitzt wird. Dabei verwandelt er sich in eine sterile, haltbare Flüssigkeit, mit der in aller Ruhe alle nötigen Proben angestellt werden können.

Ich habe überhaupt keine einzige Futterkuchenextraktion ganz ohne Toluol vorgenommen. Einzelne Extrakte scheiden langsam eine unlöslich werdende Eiweisssubstanz in geringer Menge ab. In diesem Falle genügt jedoch eine neue Filtration, um diese Extrakte wieder brauchbar zu machen. Ein Beweis bakterieller Zersetzung ist diese Abscheidung ganz und gar nicht.

Über das Wesen des Agglutinationsvorgangs sind die Ansichten von Anfang an auseinander gegangen. Während die einen den Vorgang als Toxinreaktion auffassen, wollen die andern ihn als Fermentwirkung erklären.

In der Tat hat das Rizin in vieler Hinsicht Toxincharakter. Toxine wirken oft enorm stark; dies gilt für das Rizin. Kochen entgiftet die Toxine; dies gilt für das Rizin. Toxine geben bei länger fortgesetzter Fütterung mit steigenden Dosen eine spezifische aktive Immunität; dies gilt, wie P. EHRLICH¹⁾ fand, im allereigentlichsten Sinne für das Rizin. Diese spezifische Immunität beruht bei den Toxinen auf der Erzeugung eines spezifischen, von noch unbekanntem Körperzellen abgesonderten und dann im Blutserum gelöst vorhandenen Antitoxins. Dass bei der Zufuhr steigender Dosen von Rizin ein Antirizin ent-

¹⁾ Deutsche med. Wochenschr. 1891, No. 32.

steht, welches im Reagenzglas mit Rizin eine unlösliche Verbindung gibt, ist von EHRLICH entdeckt und oft nachgeprüft worden. Es ist eine der wichtigsten Grundtatsachen der Immunisierungslehre. Unter solchen Umständen muss es berechtigtes Aufsehen erregen, wenn in einem soeben erschienenen Artikel L. LEWIN¹⁾ erklärt, dass es gegen Rizin keine Immunisierung gibt. Er dürfte mit dieser Ansicht wohl ziemlich isoliert dastehen. Natürlich kann man das Serum von rizinimmunisierten Tieren zum Nachweis von Rizin in Futterkuchenauszügen mit verwenden, wie dies MIESSNER²⁾ zuerst getan hat. Da es jedoch recht kostspielig ist, und da bei Anwesenheit nur von Spuren des Giftes dieser Nachweis unsicher wird, kann ich diese Methode nur neben der von mir verwendeten und gelegentlich zu ihrer Bestätigung empfehlen. Wir kommen im Kapitel der Rizinuslipase auf das Rizinserum zurück.

Die Wirksamkeit des Antirizins erum kann man natürlich auch in umgekehrtem Sinne, d. h. zur Hemmung einer Rizinwirkung auf Blutkörperchen verwenden. Setzt man nämlich einem Gemisch von Blut und Rizinserum Rizin zu, so tritt keine Agglutination ein, selbst wenn man die volle Rizindose, welche ohne Rizinserum nötig wäre, verwendet.

Gerade mit Rücksicht auf die absprechende neueste Publikation von L. LEWIN möchte ich noch das Urteil von LEONOR MICHAELIS³⁾ anführen. Er sagt geradezu: „Man kann die Versuche von EHRLICH als das eigentliche Fundament der Lehre von den Antikörpern bezeichnen.“ EHRLICH zeigte, dass zur vollkommenen Neutralisation einer bestimmten Rizinmenge im Reagenzglas eine bestimmte Menge Antirizin notwendig ist. Um die doppelte Rizinmenge zu neutralisieren, bedarf es genau der doppelten Menge Antirizin. Die Reagenzglasversuche EHRLICHS bewiesen, dass die Aufhebung der agglutinierenden Wirkung des Rizins auf Blutkörperchen durch Antirizins erum dem Gesetz der konstanten Proportion folgt und also kein Phantasiegebilde, wie LEWIN zu glauben scheint, ist.

¹⁾ EULENBURGS Realenzyklopädie der gesamt. Heilkunde Bd. 12 (Wien 1912), S. 521.

²⁾ Mitteilungen des Kaiser Wilhelm-Instituts für Landw. zu Bromberg Bd. 1, 1909, H. 3.

³⁾ Die Bindungsgesetze von Toxin und Antitoxin (Berlin 1905), S. 2.

Mit der Ergründung der chemischen Natur des Antirizins hat sich namentlich M. JACOBY¹⁾ beschäftigt. Er fand, dass beim Zusammengiessen von Rizin mit gewöhnlichem Serum nur eine leichte Trübung, beim Zusammenbringen mit Antirizinserum aber eine flockige Fällung entsteht. Die Menge dieser Fällung ist viel grösser, als den unwägbar kleinen Mengen von Rizin und Antirizin entspricht, die dabei in Aktion treten. JACOBY nimmt daher an, dass bei dem Unlöslichwerden von Rizin + Antirizin auch „andere Bestandteile“ des Immunsersums mit niedergedrungen werden. Erst dadurch werde die Reaktion für unser Auge sichtbar. Ich meinerseits möchte die Tatsache, dass das Rizin-Antirizinkoagulum stets mehr Eiweiss einschliesst, als das zugesetzte Antirizin enthielt, den Schluss ziehen, dass das Rizin ein Eiweissstoff ist. Um dem über die Grösse des Koagulums im Unklaren befindlichen Leser eine Vorstellung zu verschaffen, führe ich folgende Versuche an:

Ich entfernte die Gesamtmenge des in einem Gramm meiner Rizin samenkerne enthaltenen Öles. Der 0.35 g betragende Rückstand enthält nach OSBORNE 3.5 mg reines Rizin. Ich setzte zu 5 ccm Kochsalz, mit denen ich die 0.35 g Rückstand ausgezogen hatte, und in denen höchstens 3 mg Rizin sein konnten, 5 ccm Rizinserum und erhielt ein Koagulum, welches die gewaltige Ausdehnung von 10 ccm hatte.

Da die Ausdehnung eines weissen Niederschlages, den man auf schwarzer Unterlage im Uhrglas noch gerade deutlich sehen können, nicht über $\frac{1}{30}$ ccm gross zu sein braucht, so kann man, das lässt schon dieser erste Versuch vermuten, noch den 300. Teil der Rizinmenge, welche bei mir anwesend war, d. h. $\frac{3 \text{ mg}}{300} = \frac{1 \text{ mg}}{100}$ mit dem genannten Serum nachweisen. Das von mir benutzte MERCKSCHE Rizinserum trug die Titerbezeichnung 1 : 40 000, bezogen auf das MERCKSCHE Handelspräparat. Es wird den Lesern dieser Arbeit nicht ohne Interesse sein, zu erfahren, dass, auf wirkliches Rizin bezogen, dieses Handelspräparat nach Ausweis meiner weiteren Versuche noch gerade benutzt werden kann, wenn in jedem Kubikzentimeter der zu untersuchenden Flüssigkeit 0.01 mg Rizin im Sinne von OSBORNE vorhanden ist. Der Titer der optischen Benutzbarkeit, auf wirkliches Rizin bezogen, ist also 1 : 100 000 und nicht 1 : 40 000.

¹⁾ Über Rizinimmunität. HOFMEISTERS Beiträge zur chem. Phys. u. Path. Bd. 1 (Braunschweig 1906), H. 1—2, S. 51.

Natürlich darf man beim Ablesen nicht nach dem Erfolg der ersten halben Minute sich richten, sondern muss ruhig abwarten, bis das Volumen des Niederschlags möglichst gross ist, was unter Umständen eine halbe Stunde, ja noch länger dauern kann. Versäumt man diesen günstigsten Moment, so zieht sich das Gerinnsel wieder zusammen. So schrumpfte selbst mein gewaltiger Niederschlag von 10 ccm Ausdehnung auf dem Filter allmählich fast bis zum Verschwinden zusammen.

Der Wichtigkeit der Reaktion wegen will ich noch einige Versuche anführen.

In einem zweiten Versuche versetzte ich den 3 ccm betragenden Auszug aus 120 mg entfettetem Samen mit 1 ccm Rizinserum und bekam sofort Trübung, die sich rasch in ein fast 4 ccm ausfüllendes weisses Gerinnsel umwandelte.

In einem dritten Versuche versetzte ich den auf 3 ccm verdünnten Auszug aus 12 mg entfettetem Samen mit 1 ccm Rizinserum und bekam bald ein 1 ccm an Volumen betragendes Gerinnsel.

In einem vierten Versuche versetzte ich den auf 3 ccm verdünnten Auszug aus 6 mg entfettetem Samen mit 1 ccm Rizinserum und erhielt ein Gerinnsel, dessen Volumen etwa einen halben Kubikzentimeter ausmachte.

In einem fünften Versuche versetzte ich den auf 3 ccm verdünnten Auszug aus 3 mg ölfreiem Samen mit 1 ccm Rizinserum und erhielt eine weisse Gerinnung, die nach dem Niedersinken im Reagenzglas doch gerade noch den Boden als weisser Niederschlag bedeckte und gegen dunkles Papier gehalten noch sehr gut sichtbar war. Man hatte den Eindruck, dass auch die Hälfte noch sicher als Niederschlag würde zu sehen gewesen sein.

In 3 mg Rizinuspresskuchen sind nach OSBORNE 0.03 mg Rizin enthalten. Der aus diesen sich mit 1 ccm Antirizin in 4 ccm Flüssigkeit bildende Niederschlag war also noch so deutlich, dass man sagen kann, auch 0.02 mg Rizin würde mit Rizinserum einen sichtbaren Niederschlag liefern. 0.02 mg zu 4 ccm entspricht aber einem Verhältnis von 1:200000; der Titer des MERCKSchen Rizinserums ist somit also mit 1:100000 von mir keineswegs zu hoch, sondern eher zu niedrig angesetzt. Das Filtrat war in allen Fällen frei von agglutinierenden Bestandteilen. Damit ist bewiesen, dass das Antirizin das Rizinagglutinin quantitativ niederschlägt. Der mit einem Tropfen Salzsäure zersetzte unsichtbare Niederschlag auf dem Filter ging beim ersten Versuch beim Waschen mit 0.9%iger Kochsalzlösung in Lösung und zeigte nach dem Neutralisieren sowohl toxische Eigenschaften für ein Kaninchen als stark agglutinierende. Das Antirizin schlägt also sowohl

das im Rizin angenommene Agglutinin wie auch das darin angenommene Toxin nieder. Wenn beide eine einheitliche Substanz sind, wie ich behaupte, ist dies leicht verständlich. Wer meine Ansicht nicht teilt, ist absolut ausserstande zu erklären, warum der Organismus ein Antiagglutinin bildet, welches, wie man behauptet, „im Körper gar keine Rolle spielt und nur bei KOBERTSchen Reagenzglasversuchen in Aktion tritt“. Doch ich kehre zur landläufigen Anschauung zurück. Wenn wir im Anschluss an EHRlichS Nomenklatur das Antirizin als einen Rezeptor bezeichnen, so drückt sich die EHRlichSche Schule so aus, dass das Rizin bei der Reaktion „mit seinen Rezeptoren andere eiweissartige Bestandteile des Serums mitreisst“. In ganz analoger Weise reisst das Rizin bei Kontakt mit roten Blutkörperchen nicht nur deren Stroma, an dem, wie STILLMARK schon 1887 fand, allein die Verankerung vor sich geht, sondern auch das davon eingeschlossene Hämoglobin mit nieder. Die zur Verankerung des Rizens nötigen Rezeptoren sind nach JACOBYS Vermutung an den roten Blutkörperchen auch nur in minimaler Menge vorhanden, genügen aber zur vollen Wirkung. JACOBY fährt dann fort: „Wir hätten somit in der beobachteten Reaktion (einerseits im Serum, andererseits an den Blutkörperchen) einen Ausdruck der von EHRlich als wesentlich für die Immunisation und die Antitoxinbildung angenommenen Rezeptorenwanderung aus den Zellen des Organismus in die Körperflüssigkeiten. Natürlich soll nicht behauptet werden, dass die bei den Immuntieren vorhandenen Serumrezeptoren aus den roten Blutkörperchen stammen.“ Logischerweise müsste man aber doch auf Grund der EHRlichSchen Theorie, wenn man wie die meisten Autoren das Rizinagglutinin nur auf rote Blutkörperchen, aber nicht auf andere Körperzellen wirken lassen will, die Rezeptoren als Produkte der vitalen Reaktion gerade der roten Blutkörperchen gegen das bei der Immunisierung eingeführte Rizin auffassen. Ich meinerseits stehe anders als die meisten Autoren. Ich glaube, dass das Rizin auf alle lipoidreichen Zellen des Organismus einwirkt, und kann daher leicht zugeben, dass das Antirizin nicht von den roten Blutkörperchen, oder wenigstens nicht von ihnen allein produziert zu sein braucht. Ich komme im Kapitel der Rizinwirkung auf das ganze Tier darauf zurück. Zum Schluss der Besprechung über die Rezeptoren der roten Blutkörperchen für die Rizinverankerung sei noch

bem
Blut
Ver
Sub
dass
war

The
rote
hat
agg
Säu
dem
chen
aus
zers
Blut
das
rizin
Tro
besp
sch
lisa
Riz
oft
zur
Fut
obe

alle
ein
d. h
Riz
Riz

Zeit

1907

u. p

bemerkt, dass nach RAUBITSCHKE und WILENKO¹⁾ den roten Blutkörperchen aber gleichzeitig noch andere Rezeptoren für die Verankerung anderer, nicht zu den Phytoagglutininen gehöriger Substanzen zukommen. Die Genannten konnten nämlich zeigen, dass die mit Rizin gesättigten Blutkörperchen noch imstande waren, Serumagglutinine zu verankern.

Natürlich lässt sich, auch wenn man von der EHRLICHschen Theorie ganz absieht, über die Einwirkung des Rizins auf die roten Blutkörperchen etwas aussagen. Nach L. v. LIEBERMANN²⁾ hat das Rizin chemisch den Charakter einer Säure. Die Rizinagglutination kommt in der Weise zustande, dass das Rizin als Säure mit dem Stroma der roten Blutkörperchen, das ja auch dem Hämoglobin gegenüber die Rolle einer Base spielt, eine chemische Verbindung eingeht, die aus der Flüssigkeit rasch ausfällt. Diese Verbindung ist durch destilliertes Wasser nicht zersetzbar; das Wasser löst nur aus ihr wie aus intakten roten Blutkörperchen das Hämoglobin, welches jetzt ja nicht mehr an das Stroma gebunden ist, leicht heraus. Behandelt man das rizinsäure Stroma mit einer stärkeren Säure, z. B. mit einem Tropfen verdünnter Salzsäure, so bildet sich bei den oben (S. 11) besprochenen Versuchen salzsaures Stroma und das Rizin als schwächere Säure wird frei und kann nach vorheriger Neutralisation abfiltriert werden. Auf diese von mir nicht nur für Rizin, sondern auch für viele andere vegetabilische Agglutinantien oft nachgeprüfte Tatsache werden wir unten noch wiederholt zurückkommen. Dass sie für den Nachweis des Rizins in Futterkuchen von grösster Wichtigkeit ist, haben wir ja schon oben gesehen.

Die Forschungen der letzten Jahre haben ergeben, dass alle Stoffe, die Immunität hervorrufen können, bei zwei durch ein langes Intervall getrennten Einspritzungen umgekehrt wirken, d. h. Anaphylaxie auslösen. Auch dieser Satz gilt für das Rizin; ja KURT SCHERN³⁾ (unter UHLENHUTH) hat geradezu Rizin in Futterkuchen dadurch nachgewiesen, dass er Tieren,

¹⁾ Zur Kenntnis der haptophoren Gruppen der agglutinablen Substanz. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 11, 1911, S. 375.

²⁾ Über Hämagglutination und Hämolyse. Arch. f. Hygiene Bd. 62, 1907, S. 279.

³⁾ Berliner Tierärztl. Wochenschr. 1911, No. 7. — Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 36, 1910, Suppl. S. 590.

welche vorher eine Rizininjektion erhalten hatten, nach einigen Wochen einen Auszug der fraglichen Futterkuchen ins Blut einspritzte. Falls anaphylaktische Erscheinungen auftraten, schloss er auf Anwesenheit von Rizin. Bei der grossen Schwierigkeit der Ausführung und der Deutung anaphylaktischer Versuche scheint mir diese Methode zur allgemeinen Einführung noch nicht reif, namentlich da auch sämtliche Eiweissstoffe der ungiftigen Futterkuchen, ja nach UHLENHUTH und HAENDEL¹⁾ selbst die ungiftigen Fette der Futtermittel (Leinöl, Rüböl, Kokosöl usw.) Anaphylaxie auszulösen imstande sind.

Alle bisher besprochenen Eigenschaften und Wirkungen des Rizins sind von verschiedenen Autoren herangezogen worden, um seine Toxinnatur zu beweisen, und in der Tat ist seine Ähnlichkeit mit bakteriellen Toxinen unbestreitbar. Wie ich nun schon oben erwähnt habe, ist von anderer Seite, und zwar zuerst von STILLMARK, später z. B. von OPPENHEIMER²⁾ betont worden, dass es auch mit ungeformten Fermenten verglichen werden kann. L. v. LIEBERMANN³⁾ hat daraufhin eingehende Studien über diese Frage angestellt und beantwortet sie dahin, dass sowohl die Toxine im allgemeinen als das Rizin im besonderen sicher keine Enzyme sind. Nun ist die Frage aber insofern doch etwas komplizierter, als man nach LIEBERMANN'S Artikel meinen sollte, da im Rizinussamen unzweifelhaft eine echte Lipase von ausserordentlich starker fermentativer Wirkung enthalten ist. Gerade diese ist auf etwaige agglutinierende Wirkung noch nie eingehend untersucht worden. Ich werde ihr daher weiter unten ein besonderes Kapitel widmen und komme dabei auf ihre Beziehungen zum Rizin zurück. Hier mögen nur noch die nach meiner Meinung sehr wichtigen Versuche von C. NEUBERG⁴⁾ Berücksichtigung finden. NEUBERG

¹⁾ Über die praktische Verwertbarkeit der Anaphylaxie zur Erkennung und Unterscheidung verschiedener Eiweissarten. Zeitschr. f. Immunitäts-Forsch. Bd. 4, Heft 6. Zitiert nach E. FRIEDBERGER, Die Anaphylaxie. In Fortschritte der Deutschen Klinik Bd 2, 1911.

²⁾ Die Fermente und ihre Wirkungen. II. Aufl. (Berlin 1903), S. 61 bis 66. — Derselbe, Über Toxine und Antitoxine, 1904, S. 3, 11, 12.

³⁾ Sind Toxine Fermente? Deutsche med. Wochenschr. 1905, No. 33.

⁴⁾ Lipolyse, Agglutination und Hämolyse. Biochem. Zeitschr. Bd. 11, 1908, S. 401. Vergl. auch C. NEUBERG und E. ROSENBERG, Berliner klin. Wochenschr. 1907, No. 2.

fand, dass Rizinlösungen stets die Fähigkeit besitzen, Fette und Lezithine hydrolytisch zu spalten. Er versuchte nun das fett- und lezithinspaltende Enzym von dem agglutinierenden Prinzip abzutrennen. Er versuchte dies vergeblich zunächst mit Hilfe von Schütteln mit Kohle und mit Kaolin. Stets wurden beide aktive Prinzipien zusammen adsorbiert. Weiter benutzte er Fibrinflocken, die nach CUSHNY¹⁾ und M. JACOBY²⁾ das Rizin auf sich fixieren. Stets fand er dabei in der Flüssigkeit entsprechend der Abnahme an Rizin auch eine solche an Lipase. Endlich trug er in die Rizinlösung rote Blutkörperchen ein, musste aber auch hier konstatieren, dass diese gleichzeitig mit dem Agglutinin auch die Lipase verankerten. Er schliesst mit den Worten: „Die Frage, ob die Lipolyse ein Teilvorgang der Agglutination ist, bleibt nach wie vor offen. Wie aber auch ihre Beantwortung schliesslich ausfallen mag, wird man selbst einem zufälligen Zusammengehen beider Vorgänge in Zukunft erhöhte Bedeutung beimessen müssen. Denn die Erfahrungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass an den Immunitätserscheinungen Fette, Lipoide und Seifen einen unverkennbaren Anteil haben. Bei dieser Sachlage ist es selbstverständlich, dass die spezifischen Fermente der Fett- und Lipoids-substanzen, die Lipasen, welche zugleich typische Seifenbildner sind, bei den Immunitätserscheinungen eine wichtige Rolle spielen können.“ NEUBERG deutet damit an, dass auch bei der Entstehung des Antirizins das lipolytische Vermögen des Rizins bzw. die neben dem Rizin vorhandene Lipase mitwirkt.

Der letzte Autor, welcher sich mit der Frage, ob das Rizin an sich lipolytisch wirkt, beschäftigt hat, ist LAFAYETTE MENDEL.³⁾ Er fand, dass sehr sorgfältig nach der Methode von OSBORNE, MENDEL und HARRIS gereinigtes Rizin keine lipolytischen Eigenschaften mehr besitzt. Unter solchen Umständen wäre es von Wichtigkeit, die durch NEUBERG angeregte Frage experimentell zu prüfen, nämlich ob solches lipasefreies Rizin Immunität hervorzurufen imstande ist. Mich veranlassen die MENDELSchen Versuche das, was ich über die

¹⁾ Arch. f. exp. Pathol. Bd. 41, 1898, S. 439.

²⁾ HOFMEISTERS Beiträge Bd. 1, 1902, S. 51 und Bd. 2, 1902, S. 535.

³⁾ Is Haemagglutination due to Lipase? Archivio di Fisiologia vol. 7, 1909, p. 172.

Lipase zu sagen habe, in einem besonderen Kapitel zu besprechen.

Ich habe jetzt noch anzugeben, wie stark das Rizin auf die verschiedenen Blutarten einwirkt. Um die mit Rizinussamen gemachten Versuche auf reines Rizin umrechnen zu können, sind folgende Angaben von Wichtigkeit. Die Rizinusfruchtkapseln und die Samenschalen sind frei von Rizin. Frisch geerntete Samen kleinen Kalibers haben folgende Zusammensetzung:

Samenschale	25—29 %
Kernsubstanz	71—75 „

Die frische Kernsubstanz enthält:

Fettes Öl	50—65 %
---------------------	---------

In den von mir benutzten Samen betrug sie nie unter 60 %.

Die Presskuchen der geschälten Samen enthalten nach TSCHIRCH, abgesehen von Asche (10.50 %), Fettresten (8.75 %) und Wasser (10.38 %), an Stickstoffsubstanz 46.37 % und an stickstofffreier Substanz 24.00 %. Die den Aleuronkörnern entstammenden Eiweisskörper bestehen aus viel Globulinen, Nukleoalbuminen, einem Glykoprotein und wenig Albumin. Die Menge des zu den Albuminen gehörigen, ja höchstwahrscheinlich die einzige Albuminsubstanz der Presskuchen vorstellenden Rizins beträgt nach OSBORNE 1 %. Diese Zahl wird bei der Berechnung des Rizins in der unten folgenden Tabelle zugrunde gelegt werden.

Von besonderen Rizinusarten bzw. -varietäten, die ich geprüft habe, nenne ich *Ricinus niger*, *ruber* und *albus*, die mir in liebenswürdiger Weise aus Amani frisch zugeschickt wurden, sowie *Ricinus spectabilis* aus Indien. Keine dieser Spielarten ist frei von Rizin. Die von mir für gewöhnlich benutzten kleinen indischen Samen waren mehrere Jahre alt und ungemein ölfreich. Von diesen ist in meinen Versuchen immer die Rede, falls ich nichts anderes angebe. Ich habe bei diesen die Presskuchenmenge für gewöhnlich zu 50 % der Kerne gerechnet, obschon sie stets weniger als 50 % ausmachte. In allen meinen Berechnungen auf Rizin beträgt die wirkliche Rizinmenge also stets noch etwas weniger, als ich in der Berechnung angebe. Dosen, welche die zur Agglutination nötige um das Vielfache übersteigen, machen leicht Hämolyse, namentlich falls lipoidreiche

Pre
in
nich
blut

Nummer

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

17
18

Sir
Wa
bild
und
vor

Presskuchenauszüge anwesend sind. Ziegenblut liess sich nicht in die Tabelle aufnehmen, da kleine Dosen Rizin darauf gar nicht wirken und grosse gleich Hämolyse verursachen. Ziegenblutkörperchen dagegen sind eingereiht.

Tabelle I.

Vergleichende Übersicht über die Einwirkung der Rizinusauszüge auf verschiedene 1—2%ige Blutarten.

Nummer	Tierart:	Totale feste Agglutination erfolgte gerade noch		
		berechnet auf nicht entölte Samenkerne bei 1:	berechnet auf ölfreien Presskuchen bei 1:	berechnet auf reines Rizin bei 1:
1	Taubenblut	50000	100000	10000000
2	Meerschweinchenblut	50000	100000	10000000
3	Hundeblutkörperchen	20000	40000	4000000
4	Ziegenblutkörperchen	20000	40000	4000000
5	Menschenblut vom Erwachs.	10000	20000	2000000
6	Menschenblut vom Neugeb.	10000	20000	2000000
7	Katzenblutkörperchen	10000	20000	2000000
8	Rattenblut	10000	20000	2000000
9	Kaninchenblut	10000	20000	2000000
10	Hühnerblut	10000	20000	2000000
11	Schweineblut	5000	10000	1000000
12	Hammelblut.	2000	4000	400000
13	Rinderblut	2000	4000	400000
14	Froschblut (<i>Rana esculenta</i>)	2000	4000	400000
15	Krötenblut (<i>Bufo cinereus</i>)	2000	4000	400000
16	Seehasenblut (<i>Cyclopterus Lampus</i>)	2000	4000	400000
17	Igelblut	1000	2000	200000
18	Pferdeblutkörperchen	1000	2000	200000

III. Über die Rizinuslipase und ihre Wirkung.

Schon 1889 beobachtete GREEN¹⁾ und unabhängig von ihm SIFGMOND²⁾, dass beim Verreiben ölhaltiger Pflanzensamen mit Wasser sich freie Fettsäuren, wenn auch nur in geringer Menge bildeten, und schlossen daraus ganz richtig, dass ein fettspaltendes unorganisiertes Ferment, also eine Lipase, in diesen Samen vorhanden sein müsse. Erst nach diesen Entdeckungen besann

¹⁾ Proceed. Roy. Soc. 48, 1890, p. 370.

²⁾ Wiener Monatshefte f. Chem. 11, 1890, S. 272.