

Aus dem Hygienischen Institut der Med. Fakultät Okayama
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

Über die prophylaktische Wirkung des Germanins auf die Anaphylaxie.

(Gekürzt, als Referat vorgetragen auf der 43.
Generalversammlung der Okayamaer
medizinischen Gesellschaft).

Von

Sadamu Uwazumi.

Eingegangen am 10. September 1932.

Einleitung.

Germanin (Bayer 205) ist ein chemisch zusammengesetztes Medikament, das als Heilmittel für Trypanosomiasis von Bayer, Meister-Lucius (Deutschland) verkauft wird. Es ist ein grauweißliches Pulver, und bis jetzt ist nur soviel davon bekannt, daß es eine Harnstoffverbindung von komplizierten aromatischen Molekulargruppen ist. Im Jahre 1919 wurde die chemische Zusammensetzung des Medikamentes von *Fourneau*¹⁾ ziemlich genau studiert, und er berichtete, daß das Germanin eine Formel wie m-amino-benzoyl-m-amino-p-methyl-benzoyl-naphthylamin-4-6-8-trisulfonsäure hat.

Im Jahre 1902 veröffentlichten *Haendel, Jötten*²⁾, *Meyer*, und *Zeiss*^{3) 4)} die Tatsache, daß Germanin wirklich ein gegen Trypanosomiasis wirksames Medikament ist. *Meyer*⁵⁾, *Menk*⁶⁾, *Zeiss*, *Gimsa* und *Halberkann*⁷⁾ behaupteten, daß Germanin nicht nur in dem mit Trypanosoma infizierten Tier wirksam ist, sondern auch einem mit Germanin geheilten Tier gegen Trypanosoma dauernden Schutz verleiht, und daß das Blut des mit Germanin geheilten Tieres lange Zeit gegen Trypanosoma Immunität erhält. Zum Schluß vermuteten sie, daß Germanin einen innigen Zusammenhang mit dem Immunvorgang hat, und daß es dem Tier eine starke Immunität verleiht. Weiter studierten *Steppuhn*, *Zeiss* und *Brychonenko*^{8) 9)} genau die biochemische Beschaffenheit des Medikamentes und wiesen nach, daß es den kolloidalen Zustand des Eiweißes verändert und es seiner eigenen Spezifitäten beraubt. Das Medikament stärkt außerdem das Eiweiß gegen Hitze, Gerinnung, Präzipitabilität oder andere chemische Einwirkungen, das Komplement wird von Germanin in seiner Wirkung behindert, und das Antitoxin wird in seiner Bindung mit dem Toxin aufgehalten. *Mačkarowa* und *Zeiss*¹⁰⁾ studierten die Wirkung des Germanins auf Antitoxin und Agglutinin.

Kritchewski und *Awerech*¹¹⁾ berichteten, daß Germanin eine hemmende Wirkung auf die Präzipitinreaktion hat. Im Jahre 1923 behaupteten *Steppuhn*, *Zeiss* und *Brychonenko*, daß Germanin die Funktion von Fermenten wie Katalase, Urease, Trypsin nicht stört, sondern nur auf die Gärungsfunktion des Eiweißes hemmend wirkt. Nach ihren Angaben wurde die anaphylaktische Erscheinung als Eiweißgärung angesehen und aus diesem Gedankengang heraus die Hemmungswirkung des Germanins auf die anaphylaktischen Erscheinungen untersucht. Im Jahre 1926 stellten *Maķarowa* und *Zeiss* fest, daß die 2% Germaninlösung sicher die anaphylaktischen Symptome hemmt, doch gibt es noch genauere Beschreibungen des Zeit- und Mengenverhältnisses zwischen Germaningabe und Anaphylaxie. *Schmidt*¹²⁾ studierte weiter die hemmende Wirkung des Germanins auf die Serumanaphylaxie und behauptete, daß die 5% Germaninlösung sowohl bei Vorbehandlung wie auch bei Nachbehandlung durch Mischung mit Pferdeserum die anaphylaktischen Symptome verhindern kann. Das Wesen des Hemmungsmechanismus besteht nach seiner Ansicht hauptsächlich darin, daß es auf das Retikuloendothelialsystem wirkt und die Labilität des Eiweißes verändert.

Es wird aus der oben erwähnten Literatur klar, daß Germanin irgendeine Hemmungswirkung auf die Immunreaktion ausübt. Auch das Vorhandensein einer Hemmungswirkung auf die Anaphylaxie wurde von mehreren Autoren bestätigt, aber über die Erklärung des Hemmungsmechanismus bei der anaphylaktischen Reaktion gibt es keine Übereinstimmung. Deswegen habe ich zuerst den Einfluß des Germanins auf die Präzipitinreaktion, besonders auf verdünntes Immuneserum nach der Präzipitinverdünnungsmethode von *Ogata*¹³⁾ untersucht und so die hemmende Wirkung auf die Anaphylaxie studiert. Seitdem die experimentelle Anaphylaxie von *Richet*¹⁴⁾ im Jahre 1902 veröffentlicht wurde, ist die Frage der anaphylaktischen Antikörper lange Zeit hindurch ein wichtiges Problem gewesen. Doch wurde diese Frage durch die Bestimmung der Präzipitinreaktion sowohl aus der Antikörpermenge als auch aus der Bindungszone des Präzipitins von unserem Institut (*Kageyama*¹⁵⁾, *Sugimoto*¹⁶⁾, *Kuwana*¹⁷⁾) durch Aufstellung einer neuen Theorie fast gelöst. Diese Theorie besagt nichts anderes als daß die der Anaphylaxie zu Grunde liegende Substanz d.h. der anaphylaktische Antikörper mit dem Präzipitin identisch ist. Um sicher zu sein, ob mein Experiment in der Tat die neue Theorie genügend stützen kann, beschäftigte ich mich systematisch mit Studien des Einflusses des Germanins auf die aktive und passive Anaphylaxie und erzielte die folgenden Resultate.

Untersuchungsmethode.

Vor dem Versuche löste ich das Pulver in physiologischer Kochsalzlösung im nötigen Prozentsatz. Die Germaninlösung hat nicht lange Bestand, weil sich ihre Wirkungsfähigkeit innerhalb einer Woche vermindert.

Als Versuchstier habe ich Meerschweinchen benützt, deren Gewicht zwischen 200 g und höchstens 300 g schwankte.

Aktive Anaphylaxie:

Frisches Ziegen Serum 0.5 cc mit physiologischer Kochsalzlösung 10 fach verdünnt (gesamte Menge 5 cc). Einmalige subkutane Injektion in der Sternalgegend des Tieres. Nach 2-3 Wochen Inkubation wurde die Reinjektion des Antigens vorgenommen. Vor der Injektion wurde der Carotis Blut entnommen, und nach der Immunkörperverdünnungsmethode wurde der Präzipitintiter und die Bindungszone festgestellt. Bei der Reinjektion führte ich in die V. jugul. ext. diejenige Antigenmenge ein, die auf Grund der Bindungskraft des Immunkörpers berechnet wurde; d.h. man bestimmt diese nach Maßgabe der Konzentration des Antigens bei der Bindungszone und des Blutgehaltes des Versuchstieres. Dabei ergab sich, daß die Blutmenge des Versuchstieres 1/13 des Körpergewichtes betrug. Ist das Körpergewicht des sensibilisierten Meerschweinchens z.B. 260 g, so läßt sich als Blutmenge zirka 20 cc vermuten, und wenn die Bindungszone des Präzipitins 1 : 100 zeigt, so ist die der Bindungszone entsprechende Antigenmenge bei der Reinjektion 0.2 cc. Diese Antigenreinjektion wurde immer 5 Minuten nach der Germanininjektion vorgenommen.

Passive Anaphylaxie:

Als Serum zur passiven Sensibilisierung wurde das Antiziegenimmunserum von Kaninchen verwendet. Nach der Bestimmung des Präzipitintiters und der Bindungszone durch die Verdünnungsmethode von unserem Institut injizierte ich die bestimmte Serummenge nach Einheiten des Präzipitins in die Halsvene des Meerschweinchens. Nach 24 stündiger Inkubationszeit wurde das Antigen injiziert. Die Reinjektionsmenge des Antigens wurde durch das Körpergewicht des Versuchstieres sowie die Bindungszone des Immunserums bei jedem Versuche berechnet und die minimale geeignete Antigenmenge wurden bei nüchternen Tieren intravenös injiziert.

Um die Resultate übersichtlich zu gestalten, habe ich die eigentlichen Symptome dem Grade der anaphylaktischen Erscheinungen gemäß in folgende vier Arten eingeteilt:

- | | |
|--------------------------------|--|
| 1) Typische Symptome (###): | Schocktod in weniger als 5 Minuten. |
| 2) Starke Symptome (##): | Schocktod in später als 5 Minuten. |
| 3) Mittelschwere Symptome (⦶): | Wegen der starken anaphylaktischen Erscheinungen kommt das Versuchstier dem Tode nahe, bleibt aber am Leben. |
| 4) Leichte Symptome (+): | Nur Haarsträubchen, Angst, Harn- und Kotentleerung, Atemnot, Kratzen und Temperatursturz. |

Bei den Tieren, die keine anaphylaktische Erscheinungen zeigten, brauchte ich das Zeichen (—).

Experiment 1.

a. Die aktive Anaphylaxie.

1. Die Beziehung zwischen der Reinjektionsmenge und der aktiven Anaphylaxie.

Um die prophylaktische Wirkung des Germanins bei der aktiven Anaphylaxie zu untersuchen, ist es als Vorbereitung nötig, die Beziehung zwischen der Reinjektionsmenge und den Schocksymptomen klarzustellen. Aus der Tabelle 1 ist ersichtlich, daß man bei der

Tabelle 1. Die Beziehung zwischen der Reinjektionsmenge und der aktiven Anaphylaxie.

Nr.	K.G. (g)	Sensib.- menge (cc)	Int. (Tg)	Ogatasche M.		Reinjektion		Symp- tom	Ausgang
				B.z.	V.t.	Menge (cc)	Verhältnis zu B.z.e.A.m.		
1	280	0.5	14	1:100	1:16	0.22	1/1	###	tot in 3'
2	250	"	"	"	1:32	0.19	1/1	###	tot in 2'
3	265	"	"	"	1:8	0.10	1/2	###	tot in 4'
4	270	"	16	1:250	1:8	0.042	1/2	###	tot in 5'
5	235	"	"	1:100	1:64	0.045	1/4	##	tot in 6'
6	220	"	14	1:100	1:16	0.042	1/4	##	tot in 8'
7	245	"	15	1:50	1:32	0.075	1/5	++	lebt
8	270	"	;	1:50	1:32	0.069	1/6	++	lebt
9	265	"	"	1:100	1:16	0.025	1/8	+	lebt

aktiven Anaphylaxie den Schocktod nach der Reinjektion der der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechenden Antigenmenge sicher herbeiführen kann. Je stärker die Reinjektionsmenge im Verhältnis zu der Menge der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechender Antigenmenge abnimmt, desto milder wird das anaphylaktische Symptom. Man kann nicht mit einer geringeren als die der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechenden Reinjektionsmenge den Schocktod herbeiführen.

2. Die prophylaktische Wirkung des Germanins bei der aktiven Anaphylaxie.

Da es klar ist, daß die minimale den Schocktod herbeiführende Reinjektionsmenge bei der aktiven Anaphylaxie die der Bindungszone $\times 1/4$ der entsprechenden Antigenmenge ist, nahm ich in diesem Experiment die hemmende Dosis des Schocktodes als den Maßstab der prophylaktischen Kraft an. Bei der Reinjektion injizierte ich immer eine Menge, die der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechender Antigenmenge gleich kam. 2 Wochen nach der Vorbehandlung führte ich 0.2 cc 2% Germaninlösung pro 100 g dem Tier intravenös zu, und 5 Minuten nach der Injektion führte ich die Reinjektion des Antigens aus, und verfolgte die sich ergebenden anaphylaktischen Symptome. Wie aus der Tabelle 2 ersichtlich ist, kann man die hemmende Wirkung des Germanins auf die aktive Anaphylaxie nachweisen, weil das Tier die tödliche Antigenreinjektion, bei der es ohne prophylaktische Germanininjektion sicher durch Schock zu

Tabelle 2. Die prophylaktische Wirkung des Germanins bei der aktiven Anaphylaxie.

Nr.	K.G. (g)	Sensib.- menge (cc)	Int. (Tg)	Ogatasche M.		2 % G. lös. prophyl. Inj.		Reinjektion		Symptom	Ausgang
				B.z.	V.t.	pro 100 g (cc)	Menge (cc)	Menge (cc)	Verhältnis zu B.z.e.A.m.		
1	260	0.5	16	1:100	1:32	0.2	0.52	0.2	1/1	###	tot in 3'
2	250	"	"	1:100	1:16	"	0.50	0.19	1/1	###	tot in 4'
3	275	"	"	1:250	1:64	"	0.55	0.21	1/2	##	tot in 7'
4	280	"	"	1:250	1:8	"	0.56	0.043	1/2	++	lebt
5	265	"	15	1:100	1:16	"	0.53	0.1	1/2	+	lebt
6	260	"	"	1:50	1:32	"	0.52	0.1	1/4	—	lebt
7	245	"	"	1:100	1:16	"	0.49	0.047	1/4	—	lebt
8	270	"	"	1:100	1:8	"	0.54	0.052	1/4	—	lebt

Grunde gegangen wäre, erträgt. Doch kann man mit der der Bindungszone entsprechenden Antigenmenge mit Germanininjektion das Tier vor dem anaphylaktischen Schocktod nicht bewahren. Bei einer Menge, die der Bindungszone $\times 1/2$ entsprechender Antigenmenge gleich kam, verendete das erste Tier mit typischem anaphylaktischem Schocktod. Das zweite Tier war mit mittelschweren anaphylaktischen Symptomen dem Tode nahe, aber es erholte sich wieder. Das dritte zeigte nur ein sehr leichtes anaphylaktisches Symptom. „Zwei von den drei Tieren konnten bei einer Menge, die der Bindungszone $\times 1/2$ entsprechender Antigenmenge gleich kam, infolge der prophylaktischen Germanininjektion dem Schocktod entgehen. Bei der der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechenden Antigenmengereinjektion zeigt das Germanin seine Wirkung sehr deutlich, weil die Tiere keine anaphylaktische Symptome aufweisen, während sie im vorhergehenden Versuch durch diese Antigenreinjektion beinahe unter Schocksymptomen getötet wurden.

b. Die passive Anaphylaxie.

1. Die minimalen Präzipitineinheiten zur passiven Anaphylaxie.
Um die prophylaktische Kraft des Germanins bei der passiven Anaphylaxie zu untersuchen, ist es nötig, den minimalen Präzipitingehalt, der den Schocktod herbeiführen kann, in der Blutbahn der der passiv sensibilisierten Tiere zu bestimmen. Ich injizierte intravenös verschiedene Mengen des Antiziegenpräzipitins bei Meer-schweinchen. 24 Stunden nach der Sensibilisierung führte ich die der Bindungszone entsprechende Antigenmenge ein und beobachtete

wie bei aktiven Anaphylaxie die darauf folgenden allgemeinen Symptome. 24 Stunden nach der Sensibilisierung ist nach meinem Experiment der minimale Präzipitintiter in der Blutbahn, der den Schocktod sicher auslöst, 1:25, und man kann den Schocktod bei einem niedrigeren Titer als 1:25 nicht herbeiführen, und je tiefer der Präzipitintiter im Vergleich zu dem Verhältnis 1:25 liegt, um so milder wird das anaphylaktische Symptom.

Tabelle 3. Der minimale, den Schocktod herbeiführende Präzipitintiter in der Blutbahn bei der passiven Anaphylaxie.

Nr.	K.G. (g)	Imm. Serum		Sensib.- Menge (cc)	Int. (St)	Präzip.- titer 24 St. n.d.Se.	Reinjek.- menge (B.E.M.) (cc)	Symptom	Ausgang
		B.z.	V.t.						
1	220	1:250	1:1,280	0.53	24	1:35	0.068	###	tot in 2'
2	215	"	"	0.44	"	1:30	0.066	###	tot in 3'
3	200	"	"	0.35	"	1:25	0.062	###	tot in 2'
4	230	"	"	0.40	"	1:25	0.071	###	tot in 3'
5	220	"	"	0.39	"	1:25	0.068	###	tot in 4'
6	240	"	"	0.33	"	1:20	0.074	++	lebt
7	220	"	"	0.33	"	1:15	0.068	+	lebt

2. Die prophylaktische Wirkung des Germanins bei der passiven Anaphylaxie.

Nach meinem Versuch wurde festgestellt, daß der typische anaphylaktische Schocktod bei der der Bindungszone entsprechenden Reinjektionsmenge sicher herbeigeführt wurde, wenn der Präzipitintiter 1:25 in der Blutbahn des sensibilisierten Tieres nachweisbar ist und so wählte ich den Präzipitintiter 1:25 für das Versuchstier als minimale Sensibilisierungsdosis, weil ich erst mit dieser Dosis die prophylaktische Kraft des Germanins beobachten kann. Daher injizierte ich immer so, daß der Präzipitintiter in der Blutbahn des Tieres über 1:25 war. Ich sensibilisierte das Tier mit verschiedenen Mengen von Immuserum, um den Präzipitintiter 1:25, 1:30, 1:35, 1:40 in der Blutbahn zu bilden. 24 Stunden nach der Sensibilisierung führte ich 0.2 cc 2% Germaninlösung pro 100 g intravenös ein, und 5 Minuten nach der Germanininjektion führte ich noch einmal die der Bindungszone entsprechende Antigenmenge intravenös ein, und beobachtete die sich ergebenden Symptome. Die Tiere, bei denen der Präzipitintiter 1:40 in den Blutbahn nachweisbar war, verendeten einige Minuten nach der Reinjektion trotz der Germanininjektion mit typisch anaphylaktischem Schocktod. Die Tiere, die den Präzi-

pitintiter 1 : 35 zeigten, erholten sich unter mittelschweren Symptomen wieder. Die Tiere, deren Präzipitintiter 1 : 30 war, wiesen keine anaphylaktischen Symptome auf. Aus dem oben erwähnten Ergebnis kann man schließen, daß das Germanin auf die passive Anaphylaxie sicher prophylaktisch wirkt, weil sonst jedesmal Schocktod erfolgt wäre. Doch gibt es eine Grenze in dieser prophylaktischen Wirkung und bei dem hoch immunisierten Tier, das einen Präzipitintiter über 1 : 40 in der Blutbahn besitzt, ist diese Wirkung nicht mehr beobachtet.

Tabelle 4. Die prophylaktische Wirkung des Germanins bei der passiven Anaphylaxie.

Nr.	K.G. (g)	Immuns Serum		Sensib.- menge	Int. (St)	Präzipi- titer 24 St. n.d.Se.	2 % G. lös. prophy. Inj.		Reinj.- menge (cc) (B.E.M.)	Symptom	Ausgang
		B.z.	V.t.				pro 100 g (cc)	Menge (cc)			
1	240	1 : 100	1 : 640	1.32	24	1 : 40	0.2	0.48	0.18	###	tot in 5'
2	230	"	"	1.26	"	1 : 40	"	0.46	0.18	##	tot in 8'
3	220	"	"	1.06	"	1 : 35	"	0.44	0.17	++	lebt
4	235	"	"	1.13	"	1 : 35	"	0.47	0.18	++	lebt
5	240	"	"	0.99	"	1 : 30	"	0.48	0.18	+	lebt
6	220	"	"	0.91	"	1 : 30	"	0.44	0.17	+	lebt
7	230	"	"	0.79	"	1 : 25	"	0.46	0.18	—	lebt
8	210	"	"	0.73	"	1 : 25	"	0.42	0.16	—	lebt

Kurze Zusammenfassung.

1. Die sicher den Schocktod herbeiführende Reinjektionsmenge ist bei der aktiven Anaphylaxie die Menge, die der Bindungszone \times 1/4 entsprechender Antigenmenge gleich kommt, und die prophylaktische Wirkung des Germanins kommt bei der der Bindungszone \times 1/4 entsprechenden Antigenmenge zum Vorschein.

2. Der sicher den anaphylaktischen Schocktod herbeiführende minimale Präzipitingehalt in der Blutbahn ist der Präzipitintiter 1 : 25 bei der passiven Anaphylaxie und die prophylaktische Wirkung des Germanins kommt unter dem Präzipitintiter 1 : 35 zum Vorschein.

3. Das Germanin hat sicher eine prophylaktische Wirkung auf die Anaphylaxie und das Hemmungsvermögen scheint ziemlich stark sein.

Experiment 2.

1. Der Einfluß des Germanins auf das Immunpräzipitin.

Um die Wirkung des Germanins auf die Bindung zwischen Präzipitin und Präzipitinogen *in vivo* zu studieren, versuchte ich zuerst die Wirkung der Germanininjektion auf das Immunpräzipitin in der Blutbahn von aktiv und passiv sensibilisierten Tieren. Ich injizierte den aktiv oder passiv sensibilisierten Meerschweinchen intravenös 0.2 cc 2% Germaninlösung pro 100 g und nach 5', 10', 15', 30' und 2 Std. nach der Germanininjektion entnahm ich das Blut und bestimmte den Präzipitintiter. Dabei fand ich, daß die Bindungszone des Präzipitins bei jedem Versuche unverändert bleibt, daß der Verdünnungstiter 10' nach der Germanininjektion am niedrigsten ist, daß er nach weiteren 15 Min. nach der Injektion ansteigt und daß er nach 2 Stunden zum Titer vor der Germanininjektion zurückkehrt. Aus dieser Tatsache kann man schließen, daß die Bindungskraft des Präzipitins mit dem Präzipitinogen stark herabgesetzt wird, und daß

Tabelle 5. Der Einfluß des Germanins auf dem Präzipitintiter *in vivo*.

		aktiv sensib. Ms. Serum						passiv sensib. Ms. Serum							
		Antig. verd.	Antikörperverdünnung						Antig. verd.	Antikörperverdünnung					
			2	4	8	16	32	64		128	5	10	20	40	80
vor der Germanin injek.	1: 25	+	+	+	+	+	+	+	1: 250	+	+	+	+	-	
	1: 50	+	+	+	+	+	+	+	1: 500	+	+	+	+	-	
	1: 100	+	+	+	+	+	+	+	1: 1,000	+	+	+	+	-	
	1: 250	+	+	-	-	-	-	-	1: 2,500	+	+	-	-	-	
nach der Germanininjektion	5'	1: 25	+	+	+	-	-	-	1: 250	+	+	-	-	-	
		1: 50	+	+	+	-	-	-	1: 500	+	+	-	-	-	
		1: 100	+	+	-	-	-	-	1: 1,000	+	-	-	-	-	
	10'	1: 25	+	+	+	-	-	-	1: 250	+	+	-	-	-	
		1: 50	+	+	+	-	-	-	1: 500	+	+	-	-	-	
		1: 100	+	-	-	-	-	-	1: 1,000	+	-	-	-	-	
	15'	1: 25	+	+	+	+	-	-	1: 250	+	+	+	-	-	
		1: 50	+	+	+	+	-	-	1: 500	+	+	+	-	-	
		1: 100	+	+	+	-	-	-	1: 1,000	+	-	-	-	-	
	30'	1: 25	+	+	+	+	+	-	1: 250	+	+	+	-	-	
		1: 50	+	+	+	+	+	-	1: 500	+	+	+	-	-	
		1: 100	+	+	+	+	+	-	1: 1,000	+	+	-	-	-	
	2 Std.	1: 25	+	+	+	+	+	-	1: 250	+	+	+	+	-	
		1: 50	+	+	+	+	+	-	1: 500	+	+	+	+	-	
		1: 100	+	+	+	+	+	-	1: 1,000	+	+	+	+	-	

dadurch der Präzipitintiter vermindert wird. Aber wenn sich das Tier mit der Zeit von der Germaninwirkung erholt, so kommt schließlich die frühere Bindungskraft wieder zum Vorschein, als ob das Präzipitin selbst nach u. nach wieder aufträte. Diese hemmende Wirkung kann man sowohl bei aktiv als auch passiv immunisierten Meerschweinchen beobachten.

2. Das Verhalten des Serumpräzipitins bei Germanininjektion bei der aktiven Anaphylaxie.

0.2 cc 2% Germaninlösung wurde pro 100 g bei aktiv sensibilisierten Tieren injiziert. 5 Min. nach der Germanininjektion entnahm ich das Blut und reinjizierte eine subletale Antigenmenge, die der Bindungszone $\times 1/4$ entspricht, und verfolgte das Verhalten des Serumpräzipitins. 5 Min. nach der Germanininjektion wurde das Präzipitin stark vermindert, beim 1. Tier 88%, beim 2. Tier 75%, beim 3. Tier 88%. 5 Min. nach der weiteren subletalen Antigeninjektion wurde der Präzipitintiter weiter ungefähr bis zur Hälfte herabgesetzt. Diese Herabsetzung betrug 94%, 88%, und 97%. Das Kontrolltier, das mit Germanin nicht vorbehandelt wurde, starb sofort nach der Reinjektion und der Präzipitintiter zeigte eine 75%ige Herabsetzung. Bei dem anderen aktiv sensibilisierten Kontrolltier, das vor 1 $\frac{1}{2}$ Stunden mit Germanin prophylaktisch vorbehandelt war, führte ich die Reinjektion der der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechenden Antigenmenge aus. Der Präzipitintiter vor der Reinjektion war schon zum vorigen Titer zurückkehrt, das Tier erholte sich von der Germaninwirkung und starb sofort nach der Antigenreinjektion. Die prophylaktische Wirkung des Germanins scheint 1 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion ganz verloren gegangen zu sein. Nach diesem Befunde kann man vermuten, daß das Germanin direkt hemmend auf den Immunkörper wirkt, wodurch eine schwache Bindung zwischen dem nachher injizierten Antigen und dem Antikörper hervorgerufen wurde.

3. Das Verhalten des Serumpräzipitins auf die Germanininjektion hin bei passiver Anaphylaxie.

2 Stunden nach der passiven Sensibilisierung injizierte ich 0.2 cc 2% Germaninlösung pro 100 g und 5 Min. danach reinjizierte ich eine sicher tödliche Antigendosis und verfolgte das Verhalten des Serumpräzipitins. 5 Min. nach der Germanininjektion wurde das Präzipitin stark vermindert, beim 1. Tier 43%, beim 2. Tier 67%. 5 Min. nach der weiteren Reinjektion wurde der Präzipitintiter ungefähr bis zur Hälfte herabgesetzt. Diese Herabsetzung betrug 71% und 83%. 2 Stunden nach der Reinjektion bleibt der Präzipitintiter genau wie 5 Min. nach der Reinjektion. Aber bei dem Kontrolltier, das nicht mit Germanin prophylaktisch vorbehandelt war, ist der Präzipitintiter nach der Reinjektion nicht mehr nachweisbar. Das Tier starb schon

Tabelle 6. Das Verhalten des Präzipitins auf die Germanininjektion hin bei aktiver Anaphylaxie.

Nr.	K.C. (g)	Sensib.-menge (cc)	Int. (Tg)	2% G. lös. prophyl. Inj.		Reinjektion		Präzipitinreaktion					Symptom	Ausgang		
				pro 100g (cc)	Menge (cc)	Menge (cc)	Verhält. zu B.z.e. A.m.	Zeit d. Blutentnahme	Bindungszone	Antikörperverdünnung						
										2	4	8			16	32
1270	0.5	15	0.2	0.54	0.052	1/4	v. d. Probe 5' n. d. G. inj. 5' n. d. Re. 2Std. n. d. Re.	1:100 " " "	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	---	---	lebt	
2230	"	16	"	0.46	0.017	1/4	v. d. Probe 5' n. d. G. inj. 5' n. d. Re. 2Std. n. d. Re.	1:250 " " "	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	---	---	lebt	
3260	"	16	"	0.52	0.05	1/4	v. d. Probe 5' n. d. G. inj. 5' n. d. Re. 2Std. n. d. Re.	1:100 " " "	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	++ ++ ++ ++	---	---	lebt	
4240	"	15	—	—	0.092	1/4	v. d. Reinj. n.d.R.(n.d.T.)	1:50 "	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	---	---	tot in 7'
5260	"	16	"	0.52	0.05	1/4	v. d. Probe 1.5St. n.d. G. inj. 5'n.d.R. (n.d.T.)	1:100 " "	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	++ ++ ++	---	---	tot in 6'	

4 Min. nach der Reinjektion. Bei dem anderen passiv sensibilisierten Tier, das 2 Stunden vorher mit Germanin prophylaktisch vorbehandelt war, führte ich die Reinjektion der der Bindungszone entsprechenden Antigenmenge aus und untersuchte die hemmende Wirkung des Germanins auf die Anaphylaxie. Der Präzipitintiter kehrte 2 Stunden nach der Germanininjektion wieder zum vorigen Titer zurück. Das Tier starb 4 min. nach der Reinjektion und die prophylaktische Wirkung des Germanins schien 2 Stunden nach der Injektion ganz erloschen. Aus diesen Tatsachen kann man schließen, daß das injizierte Germanin den Präzipitintiter des Tieres in vivo vermindert beeinflusst, wodurch die Bindung zwischen Präzipitin und Präzipitogen verzögert wird, so daß das mit Germanin prophylaktisch vorbehandelte Tier einem Schocktod entgehen kann.

Experiment 3.

Das Verhalten des Komplementes auf die Germanininjektion hin bei Anaphylaxie.

1. Der Einfluß des Germanins auf den Komplementtiter in vivo.

Tabelle 7. Das Verhalten des Präzipitins auf die Germanininjektion hin bei passiver Anaphylaxie.

Nr.	K.G. (g)	Sensib.- menge (cc)	Immuns serum		Int. (Std)	2% G. lös. prophy. Inj.		Reinjek. menge (B.E.M.) (cc)	Präzipitinreaktion								Symp- tom	Ausgang			
			B.z.	V.t.		pro 100 g (cc)	Menge (cc)		Zeit d. Blut- entnahme	Bindun- gszone	Antikörperverdünnung										
											1: 1	1: 5	1: 10	1: 20	1: 25	1: 30			1: 35	1: 40	
1	240	0.76	1:500	1:1,280	24	0.2	0.48	0.037	v. der Probe	1:500	+	+	+	+	+	+	+	+	-	lebt	
									5' n. d. G. inj.	"	+	+	+	±	-	-	-	-			-
									5' n. d. Re.	"	+	+	±	-	-	-	-	-			-
									2 Std. n. d. Re.	"	+	+	+	-	-	-	-	-			-
2	260	0.78	"	"	"	"	0.52	0.040	v. der Probe	1:500	+	+	+	+	+	+	-	-	-	lebt	
									5' n. d. G. inj.	"	+	+	+	-	-	-	-	-			-
									5' n. d. Re.	"	+	+	-	-	-	-	-	-			-
									2 Std. n. d. Re.	"	+	+	-	-	-	-	-	-			-
3	250	0.65	"	"	"	-	-	0.038	v. der Reinjek.	1:500	+	+	+	+	+	-	-	-	###	tot in 4'	
									n.d.Re. (n.d.T.)	"	-	-	-	-	-	-	-	-			-
4	230	0.6	"	"	"	0.2	0.46	0.035	v. der Probe	1:500	+	+	+	+	+	-	-	-	###	tot in 5'	
									2St d. n. d. G. inj.	"	+	+	+	+	+	-	-	-			
									n.d.Re. (n.d.T.)	"	-	-	-	-	-	-	-	-			-

Über die prophylaktische Wirkung des Germanins auf die Anaphylaxie. 607

0.2 cc 2% Germaninlösung wurde wie bei der Präzipitinbestimmung pro 100 g dem Meerschweinchen intravenös injiziert. Danach entnahm ich das Blut 5', 15', 1 Std. und 2 Std., nach der Injektion und maß den Komplementtiter mit Ziegenhämolysin. Die Komplementwerte des Versuchstieres wurden durch Germanininjektion allmählich vermindert und nach 15 Min. zeigte der Titer minimalen Wert. Das erste Tier zeigte eine 70%ige Herabsetzung, das zweite eine 56%ige. Nach 30 Minuten vermehrt sich der Komplementtiter mit der Erholung von der Germaninwirkung, und nach 2 Stunden kehrt der Komplementtiter auf den Stand wie vor der Injektion zurück. Deswegen kann man auch in dieser Beziehung eine direkte hemmende Wirkung des Germanins auf das Komplement annehmen.

Tabelle 8. Der Einfluß des Germanins auf den Komplementtiter in vivo.

	Zeit d. Blutentnahme		Hämolyse mit dem unten geschriebenen Komplementgehalt in 1 cc										
			0.1	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.009
1	v. d. G. injektion		###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	—
	n. d. G. inj.	5'	###	###	##	##	+	—	—	—	—	—	—
		15'	###	##	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		30'	###	##	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		1 Std.	###	###	##	##	+	—	—	—	—	—	—
		2 Std.	###	###	###	###	###	###	##	+	—	—	—
2	v. d. G. injektion		###	###	###	###	###	###	###	##	+	—	
	n. d. G. inj.	5'	###	###	###	##	##	+	—	—	—	—	
		15'	###	###	##	+	—	—	—	—	—	—	
		30'	###	###	##	+	—	—	—	—	—	—	
		1 Std.	###	###	###	###	##	##	+	—	—	—	
		2 Std.	###	###	###	###	###	##	##	+	—	—	

2. Das Verhalten des Komplementes während der Germanininjektion bei aktiver Anaphylaxie.

In diesem Kapitel versuchte ich weiter, wie sich bei der aktiven Anaphylaxie das Komplement nach der Antigenreinjektion mit dem Präzipitin bei dem prophylaktischen Gebrauch des Germanins verändert. 5 Min. nach der Germanininjektion zeigte der Komplementtiter eine 70%ige Herabsetzung beim ersten Tier, eine 70%ige beim zweiten und eine 63%ige beim dritten, und bei nachfolgender Antigeninjektion eine 85%ige beim ersten Tier, eine 78%ige beim zweiten

und eine 67%ige beim dritten. Bei diesem Experiment zeigte der Präzipitintiter eine 88%ige Herabsetzung beim ersten, eine 75%ige beim zweiten und eine 88%ige beim dritten Tier. Weiter zeigte bei dem reinjizierten Präzipitinogen der Präzipitintiter eine 94%ige Herabsetzung beim ersten, eine 88%ige beim zweiten und eine 94%ige beim dritten Tier. Das Kontrolltier starb nach der Injektion der der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechenden Antigenmenge. Dabei zeigte der Komplementtiter eine 92%ige und der Präzipitintiter eine 75%ige Herabsetzung. Aus dem oben genannten Ergebnis kann man schließen, daß bei der aktiven Anaphylaxie der Komplementschwund mit dem Präzipitin ungefähr parallel geht.

3. Das Verhalten des Komplementes auf die Germanininjektion hin bei passiver Anaphylaxie.

Hier wurde bei passiver Anaphylaxie untersucht, welcher Art die Beziehungen zwischen Komplement und Präzipitin bei dem prophylaktischen Gebrauch des Germanins sind. 5 Minuten nach der Germanininjektion zeigt der Komplementtiter eine 67%ige Herabsetzung beim ersten Tier und eine 80%ige beim zweiten und beim noch einmal reinjizierten Antigen zeigte er eine 85%ige beim ersten Tier und eine 90%ige beim zweiten. Bei diesem Versuche 5 Min. nach der Germanininjektion zeigte der Präzipitintiter eine 50%ige Herabsetzung beim ersten und eine 67%ige beim zweiten Tier. Beim nochmals reinjizierten Antigen zeigte der Präzipitintiter eine 75%ige Herabsetzung beim ersten und eine 83%ige beim zweiten Tier. Das Kontrolltier starb sofort nach der Reinjektion, und der Komplementtiter und Präzipitintiter verschwanden ganz nach der Antigenreinjektion. Aus obigem Ergebnis kann man schließen, daß das Komplement auch bei der passiven Anaphylaxie mit dem Präzipitin parallel geht.

Experiment 4.

Die hemmende Wirkung des Germanins auf die Präzipitinreaktion.

a. *Der direkte Einfluß des Germanins auf die Präzipitinreaktion.*

Die prophylaktische Wirkung des Germanins auf Anaphylaxie kann man nach obigem Versuch hauptsächlich in der Hemmungsfähigkeit der Bindung zwischen Präzipitin und Präzipitinogen sehen. Um diese hemmende Wirkung auf die Präzipitinreaktion weiter klar zu machen, führte ich den nachfolgenden Versuch aus. Wenn man dem Meerschweinchen (250–300 g) 0.2 cc 2% Germaninlösung pro 100 g intravenös injiziert, so wird sie durch die Körperflüssigkeit

Tabelle 9. Das Verhalten des Komplementes auf

Nr.	K.G. (g)	Sensib.- Menge (cc)	Int. (Tg)	2% G. lös. prophy. Inj.		Reinjektion		Zeit d. Blut- entnahme	Präzipitin- titer	
				pro 100 g (cc)	Menge (cc)	Menge (cc)	M. verhält zu B.z.e. A.m.		B.z.	V.t.
1	220	0.5	14	0.2	0.44	0.052	1/4	v. der Probe	1:100	1:32
								5' n. d. G. inj.	"	1:4
								5' n. d. Reinj.	"	1:2
								2 Std. n. d. Rei.	"	1:2
2	260	0.5	15	0.2	0.52	0.1	1/4	v. der Probe	1:50	1:16
								5' n. d. G. inj.	"	1:4
								5' n. d. Reinj.	"	1:2
								2 Std. n. d. Rei.	"	1:2
3	280	0.5	15	0.2	0.56	0.054	1/4	v. der Probe	1:100	1:64
								5' n. d. G. inj.	"	1:8
								5' n. d. Reinj.	"	1:4
								2 Std. n. d. Rei.	"	1:4
4	240	0.5	14	—	—	0.092	1/4	v. der Reinj.	1:50	1:32
								n.d.Re. (n.d.T.)	1:50	1:8

Tabelle 10. Das Verhalten des Komplementes auf

Nr.	K.G. (g)	Immunsrum		Sensib.- Menge (cc)	Int. (Std)	2% G. lös. prophy. Inj.		Reinj. Menge (B.E.M.) (cc)	Zeit d. Blut- entnahme	Prätipitin titer	
		B.z.	V.t.			pro 100 g (cc)	Menge (cc)			B.z.	V.t.
1	220	1:500	1:1,280	0.7	24	0.2	0.44	0.034	v. der Probe	1:500	1:40
									5' n. d. G. inj.	"	1:20
									5' n. d. Reinj.	"	1:10
									2 Std. n. d. R.	"	1:10
2	200	1:500	1:1,280	0.6	24	0.2	0.4	0.03	v. der Probe	1:500	1:30
									5' n. d. G. inj.	"	1:10
									5' n. d. Reinj.	"	1:5
									2 Std. n. d. R.	"	1:5
3	230	1:500	1:1,280	0.6	24	—	—	0.036	vor der Rei.	1:500	1:20
									n.d.Re. (n.d.T.)	"	—

sofort verdünnt, und es kann der Germaningehalt des Blutes gemessen werden. Nun brachte ich die Germaninlösung mit 10%igem

die Germanininjektion hin bei aktiver Anaphylaxie.

Komplementgehalt														Symptom	Ausgang	
Hämolyse mit dem unten geschriebenen Komplementgehalt in 1 cc																
0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01			
###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	-	lebt
###	###	###	###	###	##	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
###	###	###	###	##	##	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
###	###	###	###	##	##	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	-	lebt
###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	+	+	-	-	-		
###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	-	lebt
###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	###	tot in 5'
##	##	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

die Germanininjektion hin bei passiver Anaphylaxie.

Komplementgehalt														Symptome	Ausgang					
Hämolyse mit dem unten geschriebenen Komplementgehalt in 1 cc																				
0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.09	0.08	0.07	0.06	0.05			0.04	0.03	0.02	0.01	
###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	-	lebt
###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	-	lebt
###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	###	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##		
###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	###	tot in 4'
##	##	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

normalem Meerschweinchenserum zusammen, sodaß letzteres eine 0.05%ige Germaninlösung bildete, um das Präzipitin zu verdünnen.

Mit diesem Medium verdünnte ich das Präzipitinserum von Kaninchen und Meerschweinchens. Dieses 10% Meerschweinchenserum, dem Germanin zugesetzt war, wurde Germanin 10% n.Ms. Serum genannt. Ich verdünnte den Präzipitintiter mit dem 10% n.Ms. Serum und dem Germanin 10% n. Ms. und verglich die Präzipitintiter. Dabei fand ich, daß der Präzipitintiter des Meerschweinchenserums, der bei 10% n. Ms. Serum Verdünnung den Titer 1:32 zeigte, bei Germanin 10% n. Ms. Serum Verdünnung den Titer 1:8 zeigte. Der Präzipitintiter des Kaninchenimmuserums, der bei der 10% n. Ms. Serumverdünnung den Titer 1:640 zeigte, zeigte bei der Germanin 10% n. Ms. Serumverdünnung den Titer 1:320. In diesem Falle hielt ich einen Teil des verdünnten Immuserums eine Stunde lang in der Zimmertemperatur und verglich die Resultate, fand aber keinen Unterschied.

Tabelle 11. Der Einfluß des unmittelbar zugesetzten Germanins auf der Präzipitinreaktion.

Vor- behand.	Verdünn- medium	Ms. Immuserum						Kn. Immuserum					
		Antikörperverdünnung						Antikörperverdünnung					
		2	4	8	16	32	64	40	80	160	320	640	1:1,280
37°C 1 Std.	10% n. Ms. Serum	+++	+++	+++	+++	++	—	+++	+++	+++	++	++	—
	Germanin 10% n. Ms. Serum	+++	+++	++	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—
Zimmer tempera.	10% n. Ms. Serum	+++	+++	+++	+++	++	—	+++	+++	+++	++	++	—
	Germanin 10% n. Ms. Serum	+++	+++	++	—	—	—	+++	+++	+++	++	—	—

b. Der indirekte Einfluß des injizierten Germanins auf die Präzipitinreaktion.

Um die hemmende Wirkung des Germanins auf die Präzipitinreaktion noch klarer darzustellen, benützte ich als Verdünnungsmedium des Präzipitins das Meerschweinchenserum, das 5 Minuten nach der intravenösen Injektion von 0.2 cc 2% Germaninlösung pro

100 g der A. Carotis des Tieres entnommen wurde. Ich nannte das Meerschweinchenserum das G. Serum und das Serum, das mit physiologischer Kochsalzlösung 10 fach verdünnt wurde, das 10% G. Serum. Damit wurden die Immunsera von Kaninchen oder Meerschweinchen verdünnt, und die Präzipitinreaktion wurde beobachtet. Vor der Ausführung der Präzipitinreaktion hielt ich einen Teil des mit dem Medium verdünnten Immunserums eine Stunde lang bei 37°C im Brutschrank und den anderen Teil als Kontrolle eine Stunde lang bei Zimmertemperatur. Aber zeigte sich zwischen den beiden Vorbehandlungen keinerlei Unterschied. Das Meerschweinchenserum, das den Titer 1:32 bei der Verdünnung mit dem 10% n. Ms.

Tabelle 12. Der Einfluß des mittelbar zugesetzten Germanins auf der Präzipitinreaktion.

Vor- behand.	Verdünn- medium	Ms. Immunserum						Kn. Immunserum					
		Antikörperverdünnung						Antikörperverdünnung					
		2	4	8	16	32	64	40	80	160	320	640	1,280
37°C 1 Std.	10% n. Ms. Serum	+++	+++	++	++	+	-	+++	+++	++	++	+	-
	10% G. Serum	+++	++	++	+	-	-	+++	++	+	+	-	-
	n. Ms. Serum	+++	+++	++	++	+	-						
	G. Serum	+++	++	+	-	-	-						
Zimmer temperat.	10% n. Ms. Serum	+++	+++	++	++	+	-	+++	+++	++	++	+	-
	10% G. Serum	+++	++	++	+	-	-	+++	++	+	+	-	-
	n. Ms. Serum	+++	+++	++	++	+	-						
	G. Serum	+++	++	+	-	-	-						

Serum zeigte, wurde zum Titer 1 : 16 reduziert bei Verdünnung mit dem 10% G. Serum und zum Titer 1 : 8 bei der Verdünnung mit dem G. Serum. Das Immuserum des Kaninchens, das den Titer 1 : 640 bei der Verdünnung mit dem 10% n. Ms. Serum hatte, zeigte den Titer 1 : 320 bei der 10% G. Serumverdünnung. Die Bindung zwischen Präzipitin und Präzipitinogen wird stark gehemmt, wenn die Immunsere mit dem mit Germanin vorbehandelten Meerschweinchenserum verdünnt werden. Das sogenannte G. Serum wirkt stärker hemmend als das 10% G. Serum.

Zusammenfassung.

Seit *Friedberger*¹⁸⁾ im Jahre 1906 die Identität von Präzipitin und anaphylaktischen Antikörper experimentell bestätigt hat, sind in dieser Hinsicht von vielen Autoren lange Zeit hindurch weitere Beobachtungen gemacht worden. Für die Verschiedenheit des Antikörpers sprachen sich *Bail*¹⁹⁾, *Amakō*²⁰⁾, *Allmann*²¹⁾, *Pick* aus, dagegen widersprachen *Harada*²³⁾, *Kraus*²⁴⁾, *Scheller*²⁵⁾, *Ueda*, usw., die energisch die Identität verteidigten. Aber seitdem die Präzipitinreaktion nach der Antikörperverdünnungsmethode von unserem Institut veröffentlicht worden ist, wurde neues Licht auf die Frage geworfen und ein großer Fortschritt in den Anaphylaxiestudien gemacht. *N. Sugimoto* wies experimentell nach, daß wenn die Bindung zwischen Antigen und Antikörper am passendsten ist, d.h. wenn die Bindungskraft des Präzipitins am stärksten ist, auch das anaphylaktische Symptom am stärksten ist. Zum Schluß zeigte er, daß abgesehen vom Wesen des anaphylaktischen Schocks, ob nun sein Entstehungsort humoral oder zellular, oder im ganzen Körper zu suchen ist, jedenfalls durch die Bindung von Antigen und Antikörper eine physikalische Veränderung im kolloidalen Verhältnis hervorgerufen wird, und daß die anaphylaktische Erscheinung nur als sekundär zu betrachten ist. Es ist auch klar geworden, daß der anaphylaktische Antikörper mit dem Präzipitin identisch ist. Noch eine nennenswerte Tatsache betrifft die Bindungszone bei der Präzipitinreaktion nach der Antikörperverdünnungsmethode. Viele Autoren unseres Institutes haben experimentell festgestellt, daß man mit der auf Grund der Bindungszone berechneten Reinjektionsmenge das Versuchstier sicher mit dem anaphylaktischen Schocktod töten kann. Wenn man den Hemmungsmechanismus der Anaphylaxie studieren will, ist es wohl nötig, daß die Bedingung, unter der der anaphylaktische Schocktod sicher hervorgerufen wird, festgestellt wird. Wenn sich die Bedingung, bei der der anaphylaktische Schocktod sicher hervorgerufen wird, nicht feststellen läßt, so genügt die Untersuchung nicht für Studien über die Hemmungen der Anaphylaxie. Die Bedingung ist nichts anderes als die Bestimmung der Reinjektionsmenge auf Grund der Bindungszone des Präzipitins.

Ich studierte genau die Hemmungswirkung des Germanins, dessen Hemmungsvermögen schon manche Autoren in allen Immunreaktionen nachgewiesen haben, und erforschte zuerst die Wirkung auf die Präzipitinreaktion nach der Antikörperverdünnungsmethode und dann auf die Anaphylaxie, wobei die Reinjektionsmenge nach

der Verdünnungsmethode bestimmt wurde. Ich versuchte die Präzipitinreaktion mit einem Verdünnungsmedium, dem Germanin mittelbar oder unmittelbar zugesetzt worden war. In beiden Fällen bemerkte man, daß Germanin auf die Reaktion stark hemmend wirkt, und daß das mittelbar zugesetzte Germanin stärker als das unmittelbar zugesetzte wirkt. Aus diesem Grund kann man sagen, daß Germanin direkt primär auf das Serumpräzipitin hemmend wirkt und daß sein Hemmungsphänomen etwas verschieden ist von anderen Medikamenten, die die Anaphylaxie hemmen, wie Adrenalin, weil dieses hauptsächlich indirekt auf die Präzipitinreaktion hemmend wirkt. Auf Grund dieser Hemmungswirkung des Germanins auf die Präzipitinreaktion möchte ich die Hemmungserscheinung bei der Anaphylaxie erklären. Nach der Germanininjektion beobachtete ich von Zeit zu Zeit den Präzipitintiter des Versuchstieres, das aktiv oder passiv sensibilisiert worden war. 10 Min. nach der Germanininjektion wurde der Präzipitintiter stark herabgesetzt, aber 2 Stunden nach der Injektion war der Präzipitintiter zum früheren Stande wieder zurückgekehrt. Die Bindungskraft des Präzipitins wurde einigermaßen durch die Germanininjektion herabgesetzt, und mit der Zeit wurde der kolloidale Zustand wieder hergestellt, die Bindungskraft erholt sich wieder und demgemäß kehrt der Präzipitintiter zum vorigen Wert zurück. Bei der aktiven Anaphylaxie kann man sicher mit der Menge, die der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechender Antigenmenge gleich ist, den Schocktod herbeiführen. Bei der passiven Anaphylaxie ist das Vorhandensein eines Präzipitintiters über $1 : 25$ notwendig, um den Schocktod mit der der Bindungszone entsprechenden Reinjektionsmenge herbeizuführen. Darüber beschrieb genau *N. Sugimoto*. Ich prüfte seine Untersuchung nach und konnte feststellen, daß alles mit meinem Experiment übereinstimmt. Wenn vor der Reinjektion Germanin prophylaktisch injiziert wird, so kann man nicht mit der Menge, die der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechender Antigenmenge gleich ist, den Schocktod herbeiführen, was kaum mit der der Bindungszone $\times 1/2$ entsprechender Antigenmenge gelingt. Bei der passiven Anaphylaxie kann man den Schocktod herbeiführen mit der der Bindungszone entsprechenden Antigenmenge trotz des prophylaktischen Gebrauchs des Germanins, wenn der Präzipitintiter über $1 : 40$ in der Blutbahn nachweisbar ist. Auf Grund dieser Tatsachen kann man sagen, daß einerseits von der Antigenmenge, die die minimale tödliche Dosis darstellt, andererseits von den Immunkörpereinheiten, die als minimale Sensibilisierungseinheiten beobachtet wurden, bei der Germanininjektion eine noch größere Menge erforderlich ist, um Schocktod sicher zu erzeugen. Nach der Germanininjektion beobachtete ich, daß der Präzipitintiter

des Tieres, das aktiv oder passiv sensibilisiert wurde, stark herabgesetzt wurde. Der kolloidale Zustand des Serums wurde durch Germanin verändert, und die Bindungskraft des Präzipitins stark herabgesetzt. Trotz der Antigenreinjektion in diesem Serumzustand wurde bei dem mit Germanin vorbehandelten Tier keine so große Herabsetzung des Präzipitins beobachtet, wie beim Kontrolltier. Das tätige Präzipitin, dessen Bindungskraft durch Germanininjektion stark herabgesetzt wurde, verbindet sich jedoch mit dem reinjizierten Antigen, zeigt aber tatsächlich eine subletale Bindungskraft und das Versuchstier kann dem anaphylaktischen Schocktod entgehen. Wie verhält sich nun das Komplement bei dem prophylaktischen Gebrauch des Germanins bei der Anaphylaxie? Es ist schon allgemein bekannt, daß die Beteiligung des Komplementes bei der Anaphylaxie eine unentbehrliche Bedingung ist. Ich untersuchte von Zeit zu Zeit den Komplementtiter nach der Germanininjektion. 30 Min. nach der Germanininjektion wurde der Titer am stärksten herabgesetzt, aber mit der Zeit erholt er sich und 2 Stunden nach der Injektion steht er ungefähr wie früher. Dieses Phänomen kann man aus der Tatsache erklären, daß sich durch die Germanininjektion der kolloidale Zustand des Blutserums verändert, und die Komplementwirkung des vorbehandelten Serums stark verdeckt wird, und es sieht aus, als ob das Komplement sich selbst verändere. Aber während allmählich der kolloidale Zustand des Serums wieder zum Normal zurückkehrt, erholt sich auch die Komplementwirkung, und es hat den Anschein als ob das Komplement vermehrt werde. Weiter untersuchte ich, wie das Komplement sich verhält gegen das reinjizierte Präzipitinogen bei dem Tier, das zum Zwecke der Prophylaxie der Anaphylaxie mit Germanin vorbehandelt wurde, und welchen Zusammenhang das Komplement mit dem Präzipitin hat. Nach der Germanininjektion vermindert sich der Komplementtiter einigermaßen und er zeigt eine große Herabsetzung durch das reinjizierte Präzipitinogen. Dieser Herabsetzungsgrad des Komplementtiters geht etwa parallel mit dem des Präzipitintiters.

Auf Grund der Untersuchungen mit Präzipitin und Komplement kann man wenigstens schließen, daß der Hemmungsmechanismus des Germanins bei der Anaphylaxie auf der Schwächung des anaphylaktischen Antikörpers beruht, die durch die Präzipitinreaktion sicher nachgewiesen wurde und daneben auf der Verminderung des Komplementwertes, die nach den Versuchen in unserem Institut als sekundäres Symptom festgestellt wurde. Die Wirkung des Germanins bei der aktiven und passiven Anaphylaxie infolge der Bindung zwischen Immunkörper und Antigen kann folgendermaßen kurz zusammengefaßt werden:

1. Germanin wirkt sicher hemmend auf die Anaphylaxie ein und sein prophylaktisches Vermögen ist ziemlich stark.
2. Durch Germanin wird die Bindung zwischen Antikörper und Antigen sowohl in vitro auch in vivo stark verzögert.
3. Dieser Hemmungsmechanismus des Germanins bei der Bindung von Antigen und Antikörper ist primär und der in vivo durch Germanininjektion veränderte Serumzustand besitzt deshalb eine bemerkenswerte Bedeutung für die Schocksymptome.

Zum Schluß möchte ich nicht verfehlen, Herrn Prof. Dr. *M. Ogata* für seine freundliche Leitung und Anregung bei dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- ¹ *Fourneau*, Ann. de l'Inst. Pasteur T. 38, P. 81, 1924. — ² *Haendel* u. *Jötten*, Berl. kl. Wochenschr. Bd. 35, S. 821, 1920. — ³ *Mayer* u. *Zeiss*, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 24, S. 257, 1920. — ⁴ *Mayer* u. *Zeiss*, ebenda Bd. 25, S. 256, 1921. — ⁵ *Mayer*, D. m. W. Bd. 40, S. 1335, 1922. — ⁶ *Menk*, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 26, S. 208, 1922. — ⁷ *Zeiss*, *Giemsa* u. *Halberkaun*, ebenda Bd. 26, S. 237, 1922. — ⁸ *Steppuhn* u. *Brychonenko*, ebenda Bd. 27, S. 206, 1923. — ⁹ *Steppuhn* u. *Brychonenko*, Bioch. Zschr. Bd. 140, S. 1, 1923. — ¹⁰ *Małarowa* u. *Zeiss*, Zschr. f. Immf. Orig. Bd. 47, S. 110, 1926. — ¹¹ *Kritchewski* u. *Awerech*, ebenda Bd. 61, S. 464, 1929. — ¹² *Schmidt*, ebenda Bd. 45, S. 496, 1926. — ¹³ *Ogata*, Vortrag in der 1. Generalversammlung der Hygiene, Mikrobiologie u. Parasitologie 1927 u. Okayama Igakkai Zasshi Jg. 41, S. 694, 1929. — ¹⁴ *Richet* u. *Portier*, C. r. soc. biol. S. 170, 1902, zit. n. Doerr. — ¹⁵ *Kageyama*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 40, S. 368, 1928. — ¹⁶ *Sugimoto*, ebenda Jg. 41, S. 2562, 1929, Jg. 42, S. 2241 u. 2329, 1930. — ¹⁷ *Kuwana*, ebenda Jg. 43, S. 402, 1931. — ¹⁸ *Friedberger*, Zschr. f. Immf. Bd. 2, S. 208, 1909. — ¹⁹ *Bail*, Arch. f. Hyg. Bd. 42, S. 307, 1902. — ²⁰ *Amako*, Fukuoka Ikadaigaku Zasshi Bd. 18, 1925. — ²¹ *Altmann*, Centralb. f. Bakt. Bd. 54, 1910. — ²² *Pick*, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Path. Bd. 1, S. 351, 1902. — ²³ *Harada*, Igaku Chuozasshi Bd. 23, S. 401, 1925 (Japanisch). — ²⁴ *Kraus* u. *Pirquet*, Centralb. f. Bakt. Bd. 32, S. 60, 1902. — ²⁵ *Scheller*, ebenda Bd. 54, S. 150, 1910.
-