

Schädigung und sphärische Umwandlung der Erythrozyten bei der Hämagglutination

Es ist erstaunlich, daß in der Literatur kein tiefer greifendes Studium über die Formveränderungen der Erythrozyten bei der Hämagglutination vorliegt. Nach COCA¹ wird die echte Hämagglutination durch eine schwere Schädigung sowie durch Fusion der Erythrozyten gekennzeichnet, während die Blutkörperchen bei der Pseudoagglutination unverändert bleiben und häufig in Form von Rollen angeordnet sind. Dieser Auffassung konnten wir uns nicht anschließen, da einer von uns² mit SCHWARZWEISS beobachtete, daß bei der Agglutination der Schaferythrozyten durch das Serum von *Mononucleosis infectiosa*-Kranken die Zellen keine Schädigung erleiden, obwohl diese serologische Probe als echte Agglutination aufgefaßt wird. Demgegenüber konnte bei der Agglutination der Schaferythrozyten durch Kaninchen-Immunserum regelmäßig eine schwere Schädigung der Zellen nachgewiesen werden. Wir berichten in dieser Arbeit über die Faktoren, von denen das Vorkommen oder das Fehlen der Zellschädigung bei der Hämagglutination abhängig ist.

Die Erythrozyten wurden aus defibriniertem Blut gewonnen und dreimal mit 0,85% NaCl Lösung gewaschen. Zur Agglutination wurde aus den abzentrifugierten Erythrozyten eine 1% Suspension bereitet und 0,2 cm³ dieser Suspension mit 0,1 cm³ der verschiedenen Serumverdünnungen vermischt. Wenn die Wirkung einer anderen Substanz (Albumin, Lipoid usw.) auf die Agglutination durch Serum untersucht werden sollte, wurde diese Substanz auch in 0,1 cm³ Vol. zugefügt, wobei aber nur 0,1 cm³ einer 2% Erythrozyten-Suspension verwendet wurde. Auf solche Weise konnte die Konzentration der Erythrozyten gleichgehalten und die Verdünnung des Serums bzw. die Konzentration anderer Substanzen jeweils auf die zugegebene Menge und nicht auf die Gesamtverdünnung bezogen werden. Die Röhrchen wurden nach gründlichem Schütteln bei Zimmertemperatur gehalten. Zur mikroskopischen Untersuchung wurde nach verschiedenen Zeitintervallen und nach Aufschütteln der agglutinierten Zellen 0,05 cm³ des Gemisches auf einen Objektträger überführt und mit Deckglas bedeckt sofort untersucht. Sowohl der Objektträger, wie das Deckglas wurden mit Seidenpapier trocken gereinigt. Die Zentrifugierprobe wurde bloß zur Feststellung des Agglutinititers parallel eingestellt.

Da die mikroskopische Untersuchung in einer Suspension unter Deckglas vorgenommen wurde, mußten wir vor Augen halten, daß die Erythrozyten unter diesen Umständen, wie PONDER³ sowie FURCHGOTT und PONDER⁴ nachgewiesen haben, auch ohne Hämagglutination interessante Formveränderungen aufweisen können. Entsprechend ihrer Beobachtung werden die scheibenförmigen Blutkörperchen nach Abdecken mit dem Deckglas in regelmäßige Kugelformen überführt. Die rasche sphärische Umwandlung der scheibenförmigen Erythrozyten erfolgt innerhalb 1–3 Sekunden, wenn die Schichthöhe zwischen Objektträger und Deckglas weniger als 50 μ beträgt und wird auf die folgenden zwei Faktoren zurückgeführt: Erhöhung des p_H bis 9,2–9,3, und Absorption einer unbekannten antisphärischen Substanz von der Oberfläche der Erythrozyten durch das Deckglas. Die sphärische Umwandlung bleibt aus, wenn an Stelle des gewöhnlichen ein Quarz-Objektträger und an Stelle des Deckglases «Plexiglas» zum Abdecken verwendet wird. Die Scheibenform bleibt aber auch in einem mit gewöhnlichem Deckglas hergestellten Präparat erhalten, wenn Albumin (antisphärischer Faktor) zugegeben wird, hingegen werden die Erythrozyten nach Zugabe von Lezithin (sphärischer Faktor) bereits im Reagenzglas in Kugelform überführt. Wenn die Versuchsbedingungen so gewählt werden, daß die sphärische Umwandlung langsam erfolgt, so entstehen unregelmäßig deformierte Scheiben- und Schlüssel- sowie Stechapfel-Formen

als Zwischenstufen der sphärischen Umwandlung. Unsere Untersuchungen bestätigten die Resultate von PONDER und FURCHGOTT, die aber die Beeinflussung der Erythrozyten durch Immunserum nicht untersucht hatten.

Abb. 1a zeigt die Kugelform der Schaferythrozyten unter gewöhnlichem Deckglas. Unter ähnlichen Bedingungen bleibt die Scheibenform erhalten, wenn Albumin zugesetzt wird (Abb. 1b). Das normale Serum (Mensch, Schaf, Kaninchen, Meerschweinchen) konserviert auf Grund unserer Untersuchungen infolge seines Albumingehaltes die Scheibenform, und zwar bis zu einer Serumverdünnung von 1:8–1:32. Es wäre somit zu erwarten, daß bei der Hämagglutination, zumindest in Gegenwart von wenig verdünntem Serum vorwiegend scheibenförmige Erythrozyten anzutreffen seien. Abb. 1c zeigt hingegen, daß die durch das unverdünnte Mononukleose-Serum «Str» agglutinierten Schaferythrozyten ohne irgendwelche Deformation ausschließlich Kugelformen aufweisen. Dieses Serum (der Kürze halber als M-Serum bezeichnet) stammt aus einem Fall von typischer *Mononucleosis infectiosa* und agglutiniert die Schaferythrozyten bis zu einer Konzentration von 1:512. Demgegenüber bleiben die mit einem Kaninchen-Immunserum agglutinierten Erythrozyten bis zu einer Serumverdünnung von 1:32 scheibenförmig und weisen eine merkbare Deformation auf (Abb. 1d).

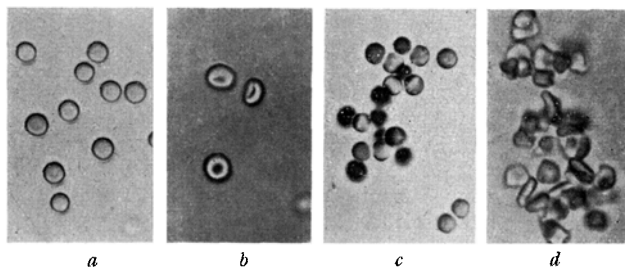


Abb. 1.

Da wir bei der Agglutination des M-Serums das Vorhandensein eines sphärischen Faktors vermuteten, untersuchten wir verschiedene Erythrozyten- sowie Organextrakte auf ihre sphärische Wirkung. Die Erythrozytenextrakte, die einer von uns gemeinsam mit SCHWARZWEISS¹ hergestellt hatte, waren diesbezüglich vollkommen wirkungslos. Demgegenüber zeigte einer unserer Organextrakte (alkoholischer Rinderherzextrakt, nach vorheriger Azetonextraktion gewonnen) auf Trockensubstanz berechnet eine bessere sphärische Wirkung als ein kommerzielles Lezithinpräparat. In der weiteren Arbeit verwendeten wir unseren Extrakt unter der Bezeichnung: Lezithinpräparat und eine sogenannte Fraktion V des Rinderplasmas der «Armour Laboratories», Chicago, als Albuminpräparat.

Wie aus Abb. 2 zu entnehmen ist, besteht ein lineares Verhältnis zwischen dem antisphärischen Faktor Albumin und dem sphärischen Faktor Lezithin. Wenn weniger Lezithin im Gemisch vorhanden ist als diejenige Menge, die intakte Kugelformen hervorbringt, erscheinen stechapfelförmige oder scheibenförmige, stark deformierte Erythrozyten. Erst wenn die Albuminkonzentration des Gemisches in einem beträchtlichen Übergewicht vorhanden ist, sind intakte scheibenförmige Erythrozyten zu sehen. Die Streuung sowie die Verschiebung der Kurve I gegenüber Kurve II ist darauf zurückzuführen, daß die Erythrozyten bei

¹ A. F. COCA, J. Immunol. 20, 263 (1931).

² J. TOMCSIK und H. SCHWARZWEISS, Schweiz. Z. Path. und Bakt. 11, 438 (1948).

³ E. PONDER, Brit. J. exper. Biol. 6, 387 (1928). – J. exper. Biol. 13, 298 (1936).

⁴ R. F. FURCHGOTT, J. exper. Biol. 17, 30 (1940). – R. F. FURCHGOTT und E. PONDER, J. exper. Biol. 17, 117 (1940).

¹ J. TOMCSIK und H. SCHWARZWEISS, Proc. Soc. exper. Biol. and Med. 69, 562 (1948).

Kurve I nicht aus frischem Blut stammten, doch zeigten sie ein gleichsinniges Verhalten.

Auf Grund dieser Beobachtungen wollten wir abklären, in welcher Weise eine Albumin- bzw. Lezithinzugabe die verschiedenartigen Zellveränderungen, die bei der Hämagglutination durch Antikörper verursacht werden, zu beeinflussen vermag. Einige der diesbezüglichen Versuche sind in Abb. 3 zusammengefaßt.

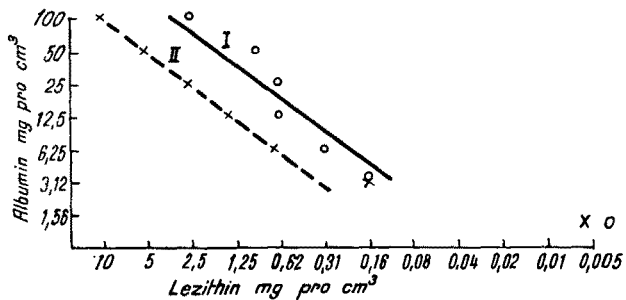


Abb. 2.
Die sphärische Wirkung des Lezithins bei verschiedenen Albuminkonzentrationen.

Das Kaninchen-Immunserum agglutiniert die Schaferythrozyten bis 1:1024 und ruft ihre Deformation in verschiedenem Grade auch noch in 1:256 Verdünnung hervor. Die Deformation der Zellen ist bis 1:32 Serumverdünnung sehr stark, und in diesem Bereiche tritt eine Fusion der Erythrozyten bereits in 1–2 Stunden nach Einstellung der Agglutination auf. Wenn aber entweder der sphärische Faktor, das Lezithin, oder aber der antisphärische Faktor, das Albumin, in genügend hoher Konzentration zugesetzt wird, verschwindet bei gleichbleibendem Agglutinationstiter die Deformation, und die Blutkörperchen werden entweder in der sphärischen oder aber in der Scheibenform stabilisiert.

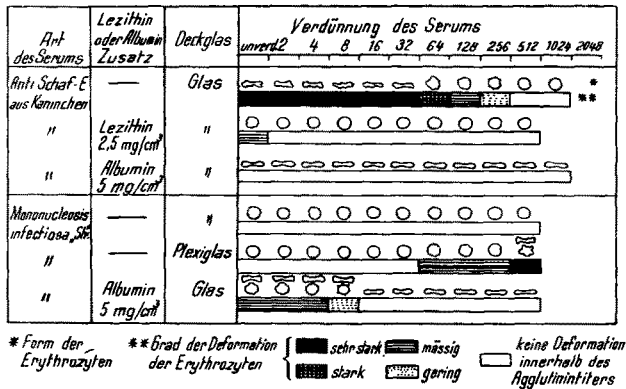


Abb. 3.
Einfluß des Lezithins bzw. des Albumins auf die Zelldeformation bei der Hämagglutination.

Das M-Serum verursacht innerhalb seines Agglutiniters bis zu einer Verdünnung 1:512 keinerlei Deformation. Die Blutkörperchen sind bei der M-Agglutination unter Deckglas kugelförmig, und die Kugelform bleibt auch unter Plexiglas bis 1:32 Verdünnung des Serums erhalten. Wir mußten somit annehmen, daß das M-Serum einen sphärischen Faktor enthält, der die antisphärische Wirksamkeit des Serumalbumins vollkommen aufhebt und die Blutkörperchen in Kugelform stabilisiert. Diese Annahme wurde auch dadurch be-

stätigt, daß die Agglutinationen des M-Serums einen anderen morphologischen Charakter aufwiesen, sobald wir den einzelnen Serumverdünnungen die gleiche Menge einer pro cm³ 5 mg Albumin enthaltende physiologische NaCl-Lösung zugeben. Bei niedrigen Verdünnungen des M-Serums traten Deformationen auf, da die zugegebene Albuminmenge nicht hinreichte, die sphärische Wirkung des wenig verdünnten M-Serums vollkommen aufzuheben.

Es soll in einer Arbeit weiterhin darüber berichtet werden, inwieferne die beschriebenen Unterschiede zwischen M-Serum und Kaninchen-Immunserum gesetzmäßig vorkommen. Wir können auf Grund der hier berichteten Untersuchungen die Schlußfolgerung ziehen, daß im Gegensatz zur Ansicht von Coca nicht jede Hämagglutination durch Deformation und Fusion der Erythrozyten gekennzeichnet ist. Es wird außer durch die Art des Antikörpers viel mehr durch das Albumin-Lezithin-Gleichgewicht des Serums bestimmt, ob überhaupt Zellveränderungen bei der Hämagglutination entstehen.

J. TOMCSIK und C. A. SCHILD

Hygiene-Institut der Universität Basel, den 22. Juni 1950.

Summary

The sheep erythrocyte antibodies produced in rabbits cause a marked deformity and a fusion of the red blood cells during their agglutination. These changes could be eliminated if albumin (antispherical factor) or lecithin (spherical factor) was added to the agglutinating serum. On the contrary several hemagglutinating sera obtained from human infectious mononucleosis cases do not cause any deformities of the sheep blood cells; they contain in surplus a spherical factor.

The general conception that the hemagglutinins induce invariably a deformation of the agglutinated red cells can not be maintained. The balance of a spherical and of an antispherical factor is more important in the production of red cell deformities than the antibodies themselves.

Über die biologische Verwandtschaft zwischen Lama und Kamel

Durch die biologische Eiweißdifferenzierungsmethode mit Hilfe des UHLENHUTHSchen Präzipitationsverfahrens konnte ich feststellen, daß das Kamel (*Camelus dromedarius* und *Camelus bactrianus*) mit den anderen Wiederkäuern (wie z. B. Rind, Büffel, Schaf, Ziege) sowie mit den Einhufern (Pferd, Esel) in keiner verwandtschaftlichen Beziehung steht. Die zoologische Klassifikation der *Camelidae* als eine besondere Familie konnte ich also von diesem Gesichtspunkt aus bestätigt finden¹. Deshalb kam ich auf den Gedanken, auch die Verwandtschaft zwischen Lama und Kamel auf diese Weise zu prüfen.

Verwandtschaftsreaktionen, d. h. die Fähigkeit der präzipitierenden Sera, in Eiweißlösungen verwandter Tiere Niederschläge zu erzeugen, wurden zwischen Mensch und Menschenaffen und zwischen verschiedenen Tierspezies innerhalb einer Reihe von Tiergruppen festgestellt². Über die Verwandtschaftsreaktion zwischen

¹ Vgl. Ü. MASKAR, Über die Spezifität des Kamel-Antiserums, Bull. Fac. Med. Istanbul, Nr. 3, 12, 239 (1949).

² Vgl. auch: J. HOLLANDS, Über die Arbeitsweise bei der UHLENHUTHSchen Eiweißbestimmung, Inaug.-Diss., Gießen (1937), und R. v. OSTERTAG, Handbuch der Fleischbeschau, Bd. I, S. 414 (F. Enke, Stuttgart 1922); ferner J. BONGERT, Veterinäre Lebensmittelkontrolle, S. 93 (R. Schoetz, Berlin 1930).