

## Antitetanolysinets Virkning paa de røde Blodlegemer.

Af

Thorvald Madsen.

---

I sin Afhandling: Ueber das Antitoxin des Tetanus (Deutsche Med. Wochenschr. 1897, Nr. 27) har Dönitz vist, at man efter al Sandsynlighed maa antage, at Tetanospasminet bindes af Nervecellerne meget kort Tid efter dets Indførelse i Kredsløbet. Tillige viste han, at det indenfor visse Grænser er muligt ved Antitoxin atter at udjage den saaledes i Cellerne fixerede Gift. Ganske lignende lagttagelser har han gjort for Difterigiftens Vedkommende (Ueber die Grenzen der Wirksamkeit des Diphterie-Heilserums i Arch. internat. de pharmacodynamie, Vol. V).

Disse Anskuelser synes imidlertid ikke at være almindelig accepterede, og det er selvfølgelig ikke muligt at føre et direkte Bevis for deres Rigtighed, da det ikke kan lade sig gøre at holde en Nervecelle isoleret i levende Tilstand.

Det var derfor ønskeligt at studere dette Helbredelsesproblem i den simplest tænkelige Form, i Reagensglas og paa isolerede levende Celler. Hertil ere de røde Blodlegemer fortrinlig egnede, idet de ere i Stand til adskilte fra Organismen at fortsætte deres Liv i en fysiologisk Kogsaltopløsning, fra hvilken de til enhver Tid med Lethed kunne isoleres.

Som tidligere omtalt<sup>1)</sup> have vi i Tetanolysinet et Stof, der virker toksisk overfor de røde Blodlegemer. Disse binde meget hurtig Giften og blive efterhaanden mere og mere paa-virkede heraf; denne Proces ender med Blodlegemets Død, hvilket viser sig ved, at det opløses og afgiver sit Hæmoglobin til den omgivende Vædske.

Denne Affektion af de røde Blodlegemer frembyder en vis Analogi med den Proces, som foregaar ved Forgiftning af den levende Organisme. Ogsaa her bindes først Giften til Cellerne, som efterhaanden blive syge, hvis Giften faar Lov til at fortsætte sin Indvirkning. Slige Reagensglasforsøg ville derfor kunne afgive en Vejledning til Bedømmelsen af Forholdene i den levende Organisme.

Opgaven var altsaa at undersøge, om det var muligt ved Antilysin at ekstrahere til de røde Blodlegemer bundet Tetanolysin.

Ved at vælge en passende Giftmængde og en passende Temperatur er man indenfor vide Grænser i Stand til at variere det Tidsinterval, som hengaar mellem Tilsætningen af Giften og Opløsningen af de røde Blodlegemer. Fordelen ved denne Forsøgsanordning er den, at man paa et hvilket som helst Stadium af Forsøget er i Stand til

a) med Sikkerhed at bestemme, om der overhovedet er indtraadt nogen Opløsning (toksisk Virkning), eventuelt i hvilken Grad,

b) nøje at angive, hvor meget Gift der paa det givne Tidspunkt er bundet til Blodlegemerne, det vil altsaa sige: bestemme, hvad man i dette Øjeblik udretter ved Tilsætning af Antitoxin.

Forsøgene anstilledes paa følgende Maade<sup>2)</sup>:

<sup>1)</sup> Th. Madsen: Om Tetanolysinet. Oversigt over Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskabs Forhandlinger, 1899.

<sup>2)</sup> Den anvendte Gift, Antitoxin, Blodfortynding og hele Forsøgsanordning var ganske samme som i ovennævnte Arbejde angivet.

Først bestemtes den Giftmængde, som i 10 cm.<sup>3</sup> af 5 2/0 Kaninblodopslemning i fysiologisk Køgsaltopløsning var i Stand til at frembringe en Opløsning, svarende til 1/50—1/60, naar Rørene henstod i 24 Timer ved 13°. Denne Giftmængde var 0,5 cm.<sup>3</sup> af en 1/10 0/0 Tetanolyisinopløsning. Alle følgende Forsøg ere anstillede med denne Giftosis og ved nævnte Tp., hvilket giver et for disse Undersøgelser hensigtsmæssigt Interval mellem Gifttilsætningen og de røde Blodlegemers Opløsning.

Dernæst fandtes den Antitoxinmængde, der var i Stand til at forhindre Opløsning, naar man til en Række blodfyldte Reagensglas satte først Antitoxin og umiddelbart derefter Gift (svarende til Immuniseringen ved Dyreforsøgene). Den fuldstændig neutraliserende Dosis var imidlertid som tidligere omtalt meget vanskelig at bestemme med Nøjagtighed. Naar det gjaldt kvantitative Bestemmelser, blev der derfor i det følgende stedse — som i tidligere Forsøg — anvendt Farvenuancerne 1/60 og 1/120 til Sammenligning.

Herefter foretoges de Forsøg, hvor Antitoxinet først blev tilsat nogen Tid efter Giften for at se, om der herved opnaaedes en Extraktion af allerede bundet Tetanolyisin: Til forskellige — i Reglen 5 — Serier af med 10 cm.<sup>3</sup> Blodopslemning fyldte Reagensglas blev der afmaalt den nævnte Mængde Tetanolyisin, og nogen Tid — som oftest 5, 15, 30, 60 og 120 Minutter — derefter blev der tilsat forskellige Antitoxinmængder (se Tab. I). For at faa et Overblik over de Processer, som her gaa for sig, maa man imidlertid samtidig foretage følgende Undersøgelser:

- a) Bestemmelsen af den Mængde Blodlegemer, som mulig vare opløste allerede før Tilsætningen af Antitoxin. Dette skete derved, at der af hver Serie udtoges et Glas til Centrifugering; den herved indvundne klare Vædske hældtes fra, og dens eventuelle Indhold af Blodfarvestof bestemtes kolorimetrisk (Kontrolglas a).
- b) Bestemmelsen af den Giftmængde, som paa det tilsvarende

Tab. I.

10 cm.<sup>3</sup> 5 ‰ Kaninblod.  
 0,5 cm.<sup>3</sup>. 1/10 ‰ Tetanolysin.  
 Tp. 13°.

Den tilsatte Anti- toxinopløsnings		Antitoxinet tilmaales følgende Tid efter Gifttilsætningen.						
Koncen- tration.	Mængde i cm. <sup>3</sup> .	umiddel- bart før.	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.	
1/10 ‰	2,0	} farveles.	} farveles.	} efterhaanden gaaende over i en svagt rødgullig Farve.	} farveles.	} Ganske svag rødgullig Farvning som Kontrol- glasset $\alpha$ .	} 1/200 som Kontrol- glasset $\alpha$ .	
	1,7							} som Kontrol- glasset $\alpha$ .
	1,3							
	1,0							
	0,8							
	0,7							
	0,6							
	0,5							
	0,4							
	0,35							
	0,3							
	0,25							
	0,2							
1/100 ‰	0,17	} efterhaanden gaaende over i en svagt rødgullig Farve.	} farveles.	} efterhaanden gaaende over i en svagt rødgullig Farve.	} farveles.	} Ganske svag rødgullig Farvning som Kontrol- glasset $\alpha$ .	} 1/200 som Kontrol- glasset $\alpha$ .	
	0,13							} som Kontrol- glasset $\alpha$ .
	1,0							
	0,8							
	0,7							
	0,6							
	0,5							
	0,4							
	0,35							
	0,3							
	0,25							
	0,2							
	0,17							
1/1000 ‰	0,13	} efterhaanden gaaende over i en svagt rødgullig Farve.	} farveles.	} efterhaanden gaaende over i en svagt rødgullig Farve.	} farveles.	} Ganske svag rødgullig Farvning som Kontrol- glasset $\alpha$ .	} 1/200 som Kontrol- glasset $\alpha$ .	
	1,0							} som Kontrol- glasset $\alpha$ .
	0,8							
	0,7							
	0,6							
	0,5							
	0,4							
	0,35							
	0,3							
	0,25							
	0,2							
	0,17							
	0,13							

Tidspunkt var bundet til de røde Blodlegemer. Hertil blev det fra Forsøg *a* resterende Blodlegemesediment 2 Gange udvasket med fysiologisk Kogsaltopløsning for at fjerne det sidste Spor af fri Gift<sup>1)</sup>. Blodlegemerne opslemmedes atter i 10 cm.<sup>3</sup> Kogsaltopløsning og lodes staa Natten over ved c. 13° sammen med de øvrige Reagensglas, hvortil der var afmaalt Antitoxin. Den Farvenuance, som viste sig efter de uopløste Blodlegemers Sænkning, var et Udtryk for den Mængde Gift, som var blevet bundet til de røde Blodlegemer i Tidsintervallet mellem Giftilsætning og Centrifugeringen (Kontrolglas *b*).

Følgende lille Oversigt angiver Forholdet mellem *a* og *b*, svarende til Tab. I.

Tab. II.

	<i>a.</i>	<i>b.</i>
5 Min.	0	$\frac{1}{120}$
15 -	0	$\frac{1}{70}$
30 -	ganske svag rødgul Farve.	$\frac{1}{60}$
60 -	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{60}$
120 -	$\frac{1}{70}$	$\frac{1}{80}$

Et Kontrolglas, indeholdende Gift alene, viste efter 24 Timer en Opløsning =  $\frac{1}{60}$ .

Man ser af Tab. II, at der efter 5 Minutters Forløb ikke var indtraadt nogen Opløsning af de røde Blodlegemer, medens der allerede var bundet saa meget Gift til disse, at deres Opløsningsgrad Dagen efter svarede til Farvenuancen  $\frac{1}{120}$ . Efter 15 Minutters Forløb var der ligeledes ingen Opløsning at se; den bundne Giftmængde svarede til Farve-

<sup>1)</sup> At dette virkelig lykkedes, blev konstateret paa følgende Maade. Til den sidste Portion Vadskevand sattes Blodlegemer i et Forhold af 5%, og Vædsken stillede dernæst ved 37°. Herved viste der sig aldrig nogen Opløsning af Blodlegemerne.

nuancen  $\frac{1}{70}$ . Først 30 Minutter efter Gifttilsætningen finde vi de første Spor af toxisk Virkning, idet Vædsken efter Centrifugeringen viste en ganske svag rødgul Farve; paa dette Tidspunkt indeholdt de røde Blodlegemer den største Giftmængde, som overhovedet fandtes bunden til dem ( $\frac{1}{60}$ ). Herefter tiltog Opløsningen i Kontrolglassene, saa at den efter en Times Forløb havde naaet Farvenuancen  $\frac{1}{200}$ , efter 2 Timer  $\frac{1}{70}$ . Paa dette Stadium var en nøjagtig Bestemmelse af den bundne Giftmængde ikke længere mulig, thi en stadig stigende Mængde af de røde Blodlegemer var allerede opløst før Centrifugeringen, saa at den udvadskede Rest stedse maatte vise en svagere Farvenuance end den, der svarede til den virkelig bundne Giftmængde.

Det fremgaar af Forsøgene, at det indenfor de første 15 Minutter,  $\varnothing$ : saalænge der ikke var indtraadt nogen Opløsning, var muligt ved Antitoxin at hindre enhver toxisk Virkning; dette til Trods for, at der allerede, som Kontrolforsøgene vise, var bundet betydelige Mængder Tetanolyisin til de røde Blodlegemer. Men ogsaa efter at Opløsningen efter 30 Minutters Forløb var begyndt, og selv da den 1—2 Timer efter Gifttilsætningen var vidt fremskreden, kunde man ved tilstrækkelig store Antitoxinmængder hindre den i at gaa videre, saa at den endelige, Dagen efter, iagttagne Farvenuance ikke blev stærkere end den, der ved Centrifugering fandtes i Kontrolglasset (a) paa det Tidrum, da Antitoxintilsætningen fandt Sted.

Man ser, at der til at ophæve al toxisk Virkning, holde Vædsken «farveløs», kræves stigende Mængder Antitoxin, efterhaanden som der hængaar længere Tid efter Forgiftningen. En paalidelig Bestemmelse af Forholdet mellem Intervallets og Antitoxinforøgelsens Størrelse faar man imidlertid ikke ved at sammenligne Farvenuancerne «farveløs», da denne, som tidligere omtalt, er overordentlig vanskelig at afgrænse. Som Maal er derfor anvendt Farvenuancerne  $\frac{1}{120}$  eller  $\frac{1}{60}$ , idet der bestemtes,

hvormeget Antitoxin, der var nødvendigt til paa de forskellige Tidspunkter at hindre Opløsningen af de røde Blodlegemer i at skride videre end til  $\frac{1}{120}$  resp.  $\frac{1}{60}$ . Resultatet findes samlet i nedenstaaende Résumé, der viser, at der 5 Minutter efter Forgiftningen kræves 2, 15 Minutter efter 3 og 30 Minutter efter 5 Gange saa meget Antitoxin som umiddelbart før Gifttilsætningen. Efter 30 Minutters Forløb forhindrer den begyndende Farvning af Vædsken nøjagtigere Maaling.

## Résumé.

af Tab. I.

Til at opnaa Farvenuancerne . . . . .	$\frac{1}{120}$	$\frac{1}{60}$
krævedes der efter nedenangivne Tidens Forløb følgende		
Mængder Antitoxinopløsning: strax	0,1 $\frac{1}{100}$ ‰	0,3 $\frac{1}{1000}$ ‰
5 Min.	0,18 —	0,7 —
15 —	0,28 —	1,0 —
30 —	0,5 —	1,3 —

Skønt det anførte Forsøg med stor Sandsynlighed viste, at det var muligt at uskadeliggøre Tetanolysin, bundet til den levende Celle, var det dog kompliceret derved, at der fandtes større eller mindre Mængder Tetanolysin i den Blodlegemerne indeholdende Vædske. For at udføre Forsøget i den størst mulige Renhed, gentoges det paa følgende Maade:

Til en Række Centrifugeglas med 10 cm.<sup>3</sup> 5 ‰ Kaninblod afmaalttes samtidig ovennævnte Giftmængde. Resp. 5, 15, 30, 60 og 120 Minutter senere centrifugeredes Blodlegemerne fra, vadskedes 2 Gange med fysiologisk Chlornatriumopløsning og opstemmedes atter i 10 cm.<sup>3</sup> af denne Vædske. Et Glas af hver Serie benyttedes som tidligere til Kontrol, til de øvrige sattes forskellige Mængder Antitoxin. Den næste Dag foretoges Sammenligning af Farvenuancerne gav ganske samme Resultat som i forrige Forsøg. Saalænge der ingen Farvning

af Vædsken — Død af de røde Blodlegemer — var at iagttage, kunde man ved Antitoxin hindre ethvert Spor af Opløsning af disse, selv om de indeholdt betydelige Mængder Tetanoly sin.

Disse Forsøg, som ere varierede paa forskellig Maade, afgive et direkte Bevis for, at det er muligt ved Antitoxin fuldstændig at uskadeliggøre det til de røde Blodlegemer bundne Tetanoly sin. Dette er ikke alene Tilfældet, førend den toxiske Virkning er indtraadt, men man kan paa ethvert Stadium af Opløsningen hindre Processen i at skride videre, med andre Ord: saalænge et tetanoly sinforgiftet rødt Blodlegeme er i Live (ikke opløst), er dets fuldstændige «Helbredelse» ved Antitoxin endnu mulig.

---