

XII.

Weitere Untersuchungen zur Phagocytenlehre.

Von Dr. Carl Hess aus Mainz.

Aus dem Laboratorium von Prof. Sattler in Prag.

(Hierzu Taf. V.)

Der *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Die Phagocytenlehre hat seit dem Abschluss meiner ersten Abhandlung durch die Untersuchungen von Pawlowsky und von Metschnikoff¹⁾ selbst eine wesentliche Bereicherung erfahren; vielleicht dürfte es trotzdem nicht überflüssig sein, weitere Beobachtungen auf diesem Gebiete mitzuthemen; ist doch gleichzeitig mit der Metschnikoff'schen Arbeit eine Publication von Christmas - Dirckink - Holmfeld erschienen²⁾, in welcher derselbe gerade das Fundamentale der Phagocytenlehre — die Phagocytose — widerlegen zu können glaubt; es sei die Rolle der Phagocyten „von ganz verschwindender Bedeutung gegenüber anderen Momenten, auf die Metschnikoff kein rechtes Gewicht gelegt“ habe.

Die einzelnen Punkte dieser Hypothese, durch welche der Schwerpunkt der Metschnikoff'schen Lehre ja vollständig verschoben würde, bedürfen einer kurzen Erörterung an der Hand der letzten und einiger neuer, in dieser Richtung angestellter Versuche.

Christmas hebt zunächst die ganz richtige Thatsache hervor, dass je nach der Empfänglichkeit des Thieres „deutliche Verschiedenheiten im Wundverlauf bestehen“, indem „die Eiterbildung an der Wundstelle im umgekehrten Verhältniss zur Empfänglichkeit des Thieres stehe“. Ganz Analoges giebt Pawlowsky an, und ich selbst habe bei den Plättchenversuchen auf die

¹⁾ Dieses Archiv. Bd. 108, 109.

²⁾ Fortschritte der Medicin. 1887. No. 13.



geringe Reaction bei Einbringung der mit Milzbrand gefüllten Kammern unter die Kaninchenhaut im Gegensatz zu der ausserordentlich starken Einwanderung bei den immunen Thieren hingewiesen. (Die Einbringung der Kammern ist ja selbstverständlich an sich ein Reiz, der zur Einwanderung einer gewissen Menge von Leukocyten stets Anlass giebt.)

Wenn aber Christmas die starke Aufnahme in die Leukocyten bei den immunen Thieren nicht beobachten konnte, so liegt dies lediglich an der Unzulänglichkeit der Versuchsanordnung, auf welche ich schon früher hingewiesen; ausserdem untersuchte Christmas nur Ratten, die ja keineswegs in solchem Grad immun sind wie z. B. der Hund und die von mir untersuchten Vögel; die Thatsache, dass in den spärlichen Eiterkörpern im Wundsecret der empfänglichen Thiere ab und zu ein intracellulärer Bacillus gesehen wird, kann nach dem früher Gesagten nicht als Gegenbeweis gelten.

Den extracellulären Untergang der Bacillen im Eiter glaubt Christmas dadurch bewiesen, dass die Bacillen in mit Eiter gefüllten Capillarröhrchen, die bei Körpertemperatur gehalten wurden, rasch zu Grunde gingen; die Eiterkörper könnten dabei „eine directe Rolle nicht spielen, da sie ja nach kurzer Zeit ausserhalb des Organismus sterben“. Die letzte Angabe ist wohl nicht ganz richtig; denn u. A. habe ich gezeigt, dass die Leukocyten in einer vollständig geschlossenen Kammer nach 12stündigem Verweilen bei Körpertemperatur allerdings noch die Fähigkeit besaßen, Bacillen aufzunehmen und zu vernichten; da zudem die Aufnahme, wie meine Versuche ergeben haben, in aller kürzester Zeit, — schon in 3—4 Stunden — erfolgt, so dürfen wir wohl annehmen, dass in den Haarröhrchen, deren Inhalt, wie es scheint, nicht mikroskopisch untersucht wurde, — wenigstens giebt Christmas darüber nichts an, — die Bacillen allerdings wesentlich intracellulär zu Grunde gingen; wenn in manchen Fällen die Virulenz des Milzbrandes erst nach 3 Tagen verloren ging — zu welcher Zeit die Leukocyten allerdings wohl zu Grunde gegangen sein dürften, — so ist damit für die deletäre Natur der Eiterflüssigkeit (in chemischem Sinn), in welcher inzwischen durch das Absterben der Leukocyten etc. mancherlei Veränderungen eingetreten sein können, nichts bewiesen.

Endlich kommt Christmas zu dem Resultat, dass die Bacillen nur an der Impfstelle zu Grunde gingen, und dass „eine Abtödtung in den Organen, — nach Eindringen der Bacillen in die Blut- und Lymphbahnen nicht stattfindend“. Auch dieser Satz, welchen Christmas aus dem negativen Ergebnisse von Organuntersuchungen immuner, mit Milzbrand geimpfter Thiere folgern zu dürfen glaubt, ist nur in ganz eingeschränktem Maass gültig; denn speciell für den Milzbrand geht aus meinen an ganz oder partiell immunen Thieren (Frosch, Ente) angestellten Beobachtungen hervor, dass da, wo die locale Reaction allein die Mikroorganismen nicht zu eliminiren vermochte, sich allerdings in den Organen, insbesondere in Leber und Milz ein lebhafter Kampf gegen die Bacillen entspinnt.

Unter den nicht auf eigene Untersuchung gegründeten Einwänden gegen die Phagocytenlehre hebt Christmas hervor, man finde „dass die meisten eitererzeugenden Mikroorganismen, welche bekanntlich für den Organismus viel weniger gefährlich sind, beinahe nie von den Leukocyten aufgezehrt werden“. Wenn, wie man wohl annehmen darf, sich dieser Einwand auf den Eitererreger *κατ' ἐξοχήν*, den *Staphylococcus pyogenes aureus* bezieht, so war derselbe nach dem jetzigen Stand unserer Kenntnisse nicht unberechtigt; denn es sind allerdings die Angaben über das intracelluläre Vorkommen des *Staphylococcus* ziemlich spärlich; u. A. giebt Lübbert¹⁾ an, sie „theils intra-, theils extracellulär gesehen zu haben“, doch ohne aus diesen mehr vereinzeltten Beobachtungen irgendwelche Consequenzen zu ziehen. [Auf die Angaben Ribbert's²⁾ komme ich unten zurück.]

Ich hatte mich nun bereits vor dem Erscheinen der Christmas'schen Arbeit mit Studien über das Verhalten des *Staphylococcus aureus* und anderer ihm nahestehender Kokken beschäftigt; da ich dabei zu wesentlich anderen Ergebnissen kam und diese selbst die Phagocytenlehre auf neue Gebiete zu übertragen gestatten, so möchte ich das Wesentliche meiner Untersuchungen in aller Kürze mittheilen, indem ich mir vorbehalte, über eine Reihe von Details, die in andrer Richtung von Interesse sind, an anderer Stelle ausführlicher zu berichten.

¹⁾ Lübbert, Biologische Spaltpilzuntersuchung. 1886.

²⁾ Ribbert, Deutsche medic. Wochenschr. 1884.

Ich wählte diesmal zu meinen Versuchen die Cornealimpfung; die Methode hat den Vorzug, dass wir es mit einem Krankheitsprozess zu thun haben, der (beim Kaninchen) ganz typisch verläuft, in den allermeisten Fällen in Heilung ausgeht, und dessen einzelne Phasen wir auf's Genaueste verfolgen und jederzeit unterbrechen können; endlich hat auch diese Geschwürsform wegen ihres so häufigen Vorkommens beim Menschen besonderes praktisches Interesse.

Impft man mit der Lanze eine kleine Menge *Staphyloc. aureus* in die Cornealsubstanz des Kaninchens ein, so entwickelt sich constant an der Impfstelle eine leichte Infiltration, die an Intensität in den nächsten Tagen rasch zunimmt; daneben tritt starke Röthung und Schwellung der Conjunctiva auf, welche mit einem schleimig-eitrigen Secret belegt ist; nach 24—36 Stunden zeigt sich um die Impfstelle die bekannte helle nekrotische Zone und um diese bildet sich die Immigrationszone von den Randschlingen der Skleralgefässe her aus; gewöhnlich sieht man schon am 2. Tag einen circumscribten Beschlag an der hinteren Cornealwand, der an Grösse rasch zunimmt, sich senkt, und so zur Bildung des Hypopyon führt; dieses nimmt bis zum 3. oder 4. Tag zu, um dann rasch zu schwinden und in 6—7 Tagen ist fast immer das acute Stadium des Prozesses abgelaufen und das Geschwür vernarbt in der bekannten Weise. Ueber einige Abweichungen von diesem Typus unten mehr.

Zum Studium der mikroskopischen Vorgänge, die ich bei diesem Prozess beobachten konnte und wobei sich von den bisher gegebenen Beschreibungen wesentlich differente Resultate ergaben, verfuhr ich so, dass ich vom ersten bis sechsten Tag nach der Impfung in allen Stadien die Bulbi enucleirte, $\frac{1}{2}$ Stunde in concentrirter Sublimatlösung, dann in Alkohol von allmählich zunehmender Stärke härtete (Sublimat hat auf die Tinctiousfähigkeit der Kokken nicht den geringsten schädigenden Einfluss); nach Einbettung der vorderen Bulbushälfte in Paraffin wurden durch die Geschwürspartie der Cornea Serien von Flächen- und Querschnitten angelegt, die in der bekannten Weise auf den Objectträger aufgeklebt wurden; diese Serien lassen sich ganz wie einzelne Schnitte vortrefflich nach der Gram'schen Methode färben und man gewinnt auf diese Weise ein vollständiges Bild

über die Vertheilung der Kokken im Geschwür selbst und in dessen Umgebung.; zur 2. Färbung benutzte ich mit Vortheil Alauncarmin.

In den ersten 24—30 Stunden vermehren sich nun die Kokken rapid an der Impfstelle; am Geschwürsrand sieht man die compacten blauen Kokkenballen mit unregelmässigen Fortsätzen oder in der bekannten Spiessform sich in das anliegende Gewebe erstrecken; aber schon nach 36 Stunden — beim Kaninchen — bemerkt man in unmittelbarer Nähe dieser Kokkenballen bei schwacher Vergrösserung eine Menge kleiner blauer Punkte, die sich bei starker Vergrösserung als kokkengefüllte Leukocyten erweisen. In dem Maass nun, als der Geschwürsprozess seiner Heilung entgegengeht, nimmt die Zahl der intracellulären Kokken zu. So sieht man z. B. am 3. Tag den ganzen Geschwürsrand von einer Zone solcher blauer Punkte umgeben und findet bei genauerer Untersuchung, dass die Leukocyten mit einer wechselnden Menge von Kokken erfüllt sind, so zwar, dass die Zahl der letzteren in dem Maass spärlicher wird, als man sich weiter vom Geschwürsrand entfernt; in diesem Stadium (d. h. dem 3. Tag) findet man in unmittelbarer Nähe des Geschwürs noch eine ziemlich grosse Menge von Kokken frei in unregelmässiger Weise im Gewebe vertheilt; die Zahl derselben wird nun rasch geringer, die Zahl der intracellulären Kokken nimmt anfangs rasch zu, dann verschwinden auch sie in den Zellen selbst; am 6. Tag nach der Impfung fand ich in einzelnen Fällen überhaupt keine Kokken mehr.

Während nun die frei im Gewebe liegenden Kokken sich nur in einer ganz schmalen, dem Geschwürsrand dicht anliegenden Zone finden, treffen wir innerhalb von Leukocyten gelegene Kokken auch in entfernteren Gewebspartien an; und zwar zeigen verschiedene Thiere darin verschiedenes Verhalten.

Dies in kurzen Zügen das wesentliche Bild, das in den von mir beobachteten Fällen mit grosser Regelmässigkeit wiederkehrte. Ueber die Deutung desselben kann ein Zweifel ja kaum mehr bestehen; wenn sich die Mikroorganismen, wie noch immer von Einigen angenommen wird, in den Zellen vermehren könnten, so ist nicht einzusehen, warum in dem Maass, als man sich vom Geschwürsrand entfernt, die extracellulären seltener werden, die intracellulären sich reichlich nur dicht am Geschwürsrand, da-

gegen, an weiter entfernten Stellen, spärlicher finden; ganz abgesehen davon, dass, um einmal teleologisch zu sprechen, es kaum denkbar wäre, wie der Organismus auf das Eindringen einer so häufigen und ausserordentlich verbreiteten Noxe dergestalt reagiren sollte, dass eben dadurch deren schädliche Wirkung gefördert werden müsste. — Könnten sich aber die Zellen den Kokken gegenüber nicht indifferent verhalten? Dann müsste man aber doch in den späteren Stadien der Heilung wenigstens eine gewisse Zahl von Kokken extracellulär finden. Es nimmt aber gerade mit fortschreitender Heilung die Zahl der extracellulären Kokken rasch ab, und wir finden die geschilderte regelmässige Vertheilung. Bei fortgeschrittener Heilung sind extracelluläre Kokken in vielen Fällen gar nicht mehr aufzufinden. Somit bleibt nur die eine Möglichkeit, dass die Kokken innerhalb der Zellen zu Grunde gehen. Ich glaubte diese Betrachtung deshalb besonders hervorheben zu sollen, weil wir bei den Kokken den Prozess des Absterbens nicht so schön verfolgen können, wie es beim Milzbrand möglich war; als einziges Symptom des Todes der Kokken glaube ich eine gewisse Tendenz derselben zu conglutiniren, grosse unregelmässige Knollen innerhalb der Leukocyten zu bilden, ansehen zu sollen, wie ich solche in späteren Stadien der Heilung nicht selten beobachtete.

Von besonderem Interesse für die Frage von der individuellen Disposition ist die Beobachtung, dass in zwei, am 2. bzw. 5. Tag nach der Impfung letal endigenden Fällen, in welchen das Geschwür ausnahmsweise bis zum Tode grösser geworden und das Hypopyon colossal zugenommen hatte, eine Phagocytose trotz reichlicher Einwanderung von Leukocyten so gut wie gar nicht wahrgenommen werden konnte.

Die Versuche erforderten natürlich möglichste Ausdehnung und Abänderung. Zunächst erzeugte ich das Geschwür bei der Katze, bei welcher erfahrungsgemäss diese Prozesse ausserordentlich viel rascher und leichter ablaufen. Ich fand 18 Stunden nach der Impfung starke Secretion der Conjunctiva, Infiltration an der Impfstelle, die Cornea leicht getrübt; nach 28 Stunden die Cornea intensiv trüb, die Infiltration an der Impfstelle sehr stark.

Nach 44 Stunden war die Cornea wieder klarer, die Secretion der Conjunctiva sistirt, die Infiltration weniger stark; zur

Bildung eines Hypopyon war es überhaupt nicht gekommen, es zeigte sich nur an der hinteren Cornealfläche, der Stelle des Geschwürs entsprechend, ein kleiner, circumscripiter grauweißer Beschlag. In diesem Stadium wurde das Auge enucleirt: die Abbildung (Fig. 1) zeigt einen Durchschnitt durch die Mitte des Geschwürs bei ganz schwacher Vergrößerung, um eine Uebersicht über die Vertheilung der kokkenhaltigen Zellen im Cornealgewebe zu geben.

Vergleicht man das Bild mit dem entsprechenden Stadium beim Kaninchen, so findet man zunächst eine ausserordentlich viel grössere Zahl von intracellulären Kokken, und es sind die kokkenbeladenen Leukocyten sehr viel weiter vom Geschwür weggewandert, als es dort zu beobachten war; einzelne sind sogar bis an die Membr. Descemeti und bis in die vordere Kammer zu verfolgen. Es ist diese Beobachtung von besonderer Bedeutung für die vielumstrittene Frage nach der Herkunft des Eiters in der vorderen Kammer¹⁾; viele Ophthalmologen widerstrebten bisher der Annahme, dass das Hypopyon von den Leukocyten des Geschwürs selbst herkomme; unsere Beobachtung setzt, für einen Theil des Hypopyon wenigstens, diese Annahme ausser Zweifel und beweist die Durchlässigkeit der Membrana Descemeti für Leukocyten in pathologischen Zuständen. Im Allgemeinen aber finden sich Kokken in der vorderen Kammer nur äusserst spärlich vor; beim Kaninchen fand ich solche oft überhaupt nicht, was den negativen Erfolg der von Lübbert mit Hypopyonmassen angestellten Impfungen erklärt.

Es sind an der Zerstörung der Kokken im Geschwür aber nicht allein die vom Cornealrand her eingewanderten Zellen theiligt, vielmehr spielen dabei auch die aus dem Conjunctivalsack stammenden Zellen zweifellos eine grosse Rolle. Schon 7—8 Stunden nach der Impfung fand ich in dem (häufig und regelmässig untersuchten) Secret neben grossen Mengen von freien Kokken solche in nicht unbeträchtlicher Menge intracellulär; je später man das Secret untersucht, desto spärlicher werden die freien und desto reichlicher die intracellulären Kokken.

Endlich stellte ich noch einige Versuche an, welche mehr in praktischer Hinsicht von Interesse sind. Seit v. Gräfe ist

¹⁾ S. Sitzungsberichte der Heidelberger ophthalmologischen Gesellsch. 1885.

die Application der feuchten Wärme als das souveräne Heilmittel gegen diese Geschwürsformen anerkannt (chirurgische Eingriffe selbstverständlich ausgenommen); ich suchte die pathologisch-anatomische Begründung für die Therapie in der Weise zu bringen, dass ich Kaninchen gleichzeitig an beiden Augen impfte und nach 1—3 Tagen auf das eine Auge während 12 Stunden mit Hülfe der bekannten Leiter'schen Spiralen eine gleichmässige Wärme ziemlich energisch wirken liess. Applicirte ich nun die Wärme am 1. Tag nach der Impfung, so fand ich bei Vergleichung der 36 Stunden nach der Impfung enucleirten Bulbi, dass die absolute Menge der Kokken in dem mit Wärme behandelten Auge eine viel grössere war, als in dem nicht erwärmten. Die Aufnahme in Leukocyten war in beiden Fällen noch sehr gering. Wurden hingegen die Umschläge erst am 3. Tag gemacht, so konnte ich beobachten, dass in dem erwärmten Auge sämtliche Kokken mit ganz wenigen Ausnahmen bereits in Zellen lagen, indess im anderen noch eine sehr grosse Menge von freien Kokken neben den intracellulären sich vorfand; das Conjunctivalsecret des erwärmten Auges enthielt überhaupt keine Kokken mehr, das des anderen eine grosse Menge derselben intra- und extracellulär.

Es spricht dies in der That dafür, dass die Wärme, die anfangs zwar der stärkeren Vermehrung der Kokken entschieden günstig ist, die Thätigkeit der Leukocyten in so hohem Maass steigert, dass sich die Aufnahme der Kokken durch die weissen Blutkörper in sehr viel kürzerer Zeit abspielen kann.

Allerdings setzt nun die Cornealimpfung ganz besonders günstige Bedingungen für die Entwicklung einer lebhaften Phagocytose, da das Einwandern von weissen Blutkörpern vom Cornealrand, wie von der Conjunctiva her, rasch und leicht erfolgen kann. Ganz anders verhält es sich schon z. B. bei Injection von Staphylokokken in den Glaskörper: ich konnte hier 48 Stunden nach einer solchen — zu welcher Zeit an der Cornea die Phagocytose schon lebhaft im Gange ist, — zwar ein starkes Wachstum der Kokken längs des Stichkanals beobachten, indess waren die Leukocyten, trotzdem der Bulbus bereits heftige panophthalmische Erscheinungen zeigte, noch nicht bis zum Kokkenheerd vorgedrungen und wir dürfen wohl annehmen, dass die ausseror-

dentlich wechselnden Krankheitsbilder, welche beim Eindringen, ganz besonders des *Staphylococcus aureus* in den Organismus von verschiedenen Stellen aus, beobachtet werden, zum Theil auf ähnliche Differenzen der localen Reaction zurückzuführen sind, und gerade hier drängt sich eine Fülle interessanter Fragen auf, die zum Theil nur an der Hand von klinischem und chirurgischem Material zu lösen wären. —

Nach den vorliegenden Beobachtungen dürften auch die Ribbert'schen Untersuchungen über das Schicksal des *Staphylococcus* im Körper eine andere Deutung erfahren.

Ribbert fand nach reichlicher intravenöser Injection zunächst eine Anhäufung der Kokken in Leber, Milz und Nieren; später verschwanden sie aus ersteren und wurden nur in den Nieren gefunden, woraus Ribbert auf eine Elimination durch die letzteren schliessen zu können glaubt, indem er den Untergang in Leber und Milz entschieden in Abrede stellt. Eine Wiederholung seiner Experimente ist mir leider noch nicht möglich gewesen. Doch genügen seine Angaben allen Postulaten der Phagocytenlehre vollständig; wenn wir berücksichtigen, dass nach meinen Beobachtungen (s. die Milzbrandarbeit) die Zellen der Nierengefässe nicht, wie diejenigen der Leber und wie die Milzzellen, die Fähigkeit besitzen, Bacillen aufzunehmen, so müssen die Kokken ja gerade hier günstigere Bedingungen für die Ansiedlung finden.

Die vielen kokkenhaltigen Leukocyten, die Ribbert gesehen, deuten auf eine energische Phagocytose in der Blutbahn selbst hin. Wenn aber die Thiere doch häufig zu Grunde gehen, so kann dies durchaus nicht als Einwand gegen die Theorie gelten; vielmehr handelt es sich wieder um einen Fall von unvollkommener Phagocytose, wie wir deren schon mehrere kennen gelernt haben.

Die wenigen Beobachtungen, welche ich mir erlaubt habe in Kürze mitzutheilen, werden, wie ich hoffe, dazu beitragen, auch für diesen weitest verbreiteten Mikroorganismus die hervorragende Bedeutung der Phagocytenlehre darzuthun, und sie können vielleicht als Ausgangspunkt dienen für eine Reihe von Fragen, die praktisch von grösserer Tragweite sind.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel V.

- Fig. 1. Ulcus corneae der Katze 44 Stunden nach Impfung von *Staphylococcus pyogenes aureus*. Zeiss Oc. 2, Obj. A. Die schwarzen Punkte entsprechen eben so vielen kokkengefüllten Leukocyten. a Infiltrationsheerd. b Nekrotische Zone. c Membr. Desc. d. Beschlag d. hint. Kapsel.
- Fig. 2. Partie des vorigen Präparates (Randtheil des Geschwürs) bei starker Vergrößerung. Zeiss Oc. 4, Obj. $\frac{1}{2}$ Immersion.

XIII.

Die Bedeutung der Sehhügel auf Grund von experimentellen und pathologischen Daten.

Von Prof. W. Bechterew aus Kasan.

(Schluss von S. 154.)

Ergebnisse der Sehhügelzerstörung mit Erhaltung der Grosshirnhemisphären.

Die betreffenden Versuche wurden von mir an Vögeln (Tauben und Hühnern) und Säugethieren (Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden) angestellt.

An Tauben und Hühnern lässt sich wegen der Kleinheit des Gehirns die Operation der Sehhügelzerstörung fast niemals ganz rein, ohne Nebenverletzung anliegender Hirntheile, ausführen. Trotzdem gelingt bei gewisser Behutsamkeit im Operiren an diesen Thieren eine ziemlich localisirte Läsion in der Sehhügelregion. Es wurde zu diesem Zweck von mir folgendes Operationsverfahren benutzt:

Nach Eröffnung der Schädelkapsel in der Gegend der Sagittalnaht drang ich mit einem feinen, pikenartigen Instrument zwischen die Grosshirnhemisphären des Thieres, indem ich das Gewebe derselben möglichst schonte. Zu bezeichnetem Zweck stellte ich die Ebene der Klinge des Instrumentes anfänglich in der Richtung der longitudinalen Hirnspalte, und indem ich das Instrument in dieser Stellung allmählich zwischen den Hemi-