

III.**Ueber experimentelle Erzeugung von Amyloid.**

(Aus dem Pathologischen Institut zu Berlin.)

Von Dr. Carl Davidsohn,
Volontärarzt am Pathologischen Institut.

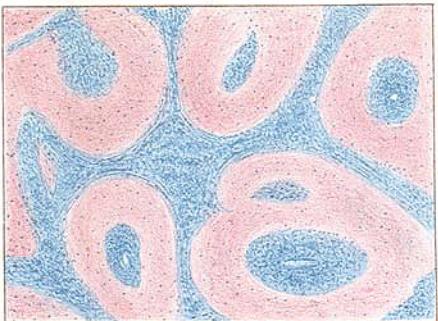
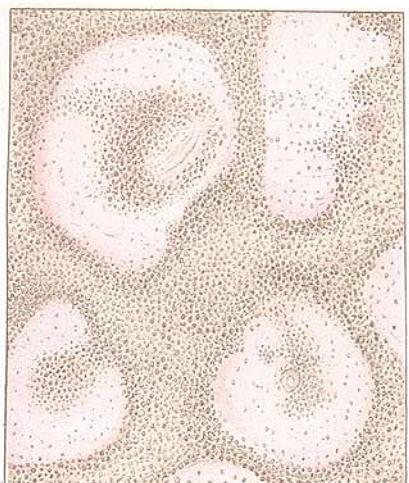
(Hierzu Taf. I.)

Das von der Natur erzeugte Amyloid tritt uns als fertige Substanz entgegen. Vor mehr als funfzig Jahren beim Menschen entdeckt, später auch bei Pferden und anderen Thieren gefunden, ist es in Bezug auf seine Herkunft und Entstehungsweise heute noch ebenso räthselhaft wie damals. Als ein grosser Fortschritt müsste es bezeichnet werden, wenn es gelänge, experimentell Amyloid herzustellen, denn ist erst der Weg bekannt, auf dem die Veränderung zu Stande kommt, so wird es bei weiteren Versuchen nicht schwer sein, die einzelnen Stufen dieses Weges zu betrachten, aus der Reihenfolge dann die Auseinanderfolge zu construiren und so das Entstehen der Substanz zu verfolgen, ihre Herkunft zu erforschen.

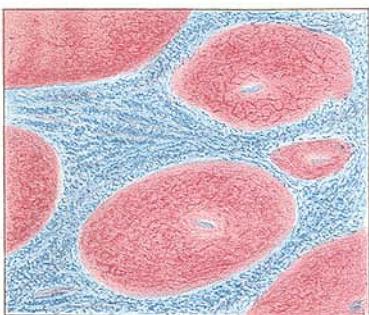
Nachdem wiederholt gelegentlich anderer Versuche (Bouchard und Charrin, Czerny u. A.) amyloide Veränderungen bei Thieren gefunden waren, hat Krawkow¹⁾ sie als erster systematisch erzeugt. Was er erreichte, hielt er der beim Menschen „Amyloid“ genannten Substanz für gleich; ob es ihr thatsächlich an- oder unterzuordnen ist, sollen meine Untersuchungen, die ich auf Anregung des Herrn Rud. Virchow zur Nachprüfung der erwähnten Arbeit angestellt habe, darthun.

Unsere Resultate stimmen, um es vorwegzunehmen, im Wesentlichen überein, die Deutung, die ich den Befunden gebe, ist eine ähnliche, so dass ich zunächst immer von „Amyloid“ auch da sprechen werde, wo ich die neu dargestellte Substanz meine.

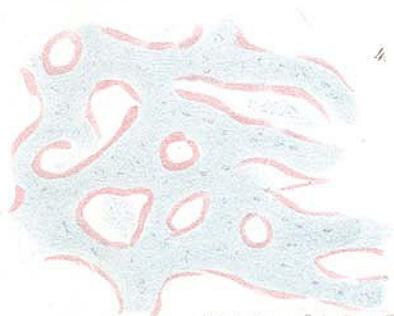
¹⁾ De la dégénérescence amyloïde et des altérations cirrhotiques provoquées expérimentalement chez les animaux. Arch. de méd. expér. et d'anatomie pathol. No. 2. 1896.



2.



3.



4.

Autor del.

Abb. Schmitz Lith. St. Bonn.

Die Art der Ausführung der Experimente soll nur ganz kurz geschildert werden, ich verweise auf die Arbeit Krawkow's, der mir auch mündlich in dankenswerther Bereitwilligkeit seine Operationsmethoden auseinandersetzte.

Die mit Reinculturen von *Staphylococcus pyogenes aureus* inficirte Bouillon wurde Thieren subcutan eingespritzt. Zwei bis drei Tage nach Ablauf der darauf erfolgenden Reaction erhielten die Thiere weitere Injectionen und so fort, bis der Tod eintrat. In der Hälfte der Fälle erhielt ich die erwünschten, als Amyloid bezeichneten Veränderungen. Trotzdem ein bakteriologischer Unterschied zwischen den einzelnen Reinculturen nicht bestand, glaube ich dennoch, dass die Wirksamkeit der aus Eiter verschiedener Krankheiten gezüchteten Kokken eine verschiedene war. Die besten Resultate gab der einem tuberculösen Empyem der Brusthöhle entnommene Eiter, in zweiter Linie kam der einer Mastitis entstammende, während die von Panaritium, Hautfurunkel (falschlich für Rotz gehalten), traumatischer, anscheinend subcutan entstandener Kniegelenksvereiterung gezüchteten Kokken mit geringerem Erfolge benutzt wurden.

Die Bouillon wurde stets in gleicher Weise nach der Koch'schen Vorschrift hergestellt. Die Thiere gehörten mehreren Arten an, ich injicirte Kaninchen, Mäuse, Hühner, Meerschweinchen und Katzen, die beiden erstgenannten gaben die besten Präparate, die zwei letzten zeigten keine nachweisbaren amyloiden Veränderungen. Als Ort der Injectionen wurde meist die Rückenhaut gewählt, nur die Hühner erhielten intramuskuläre, einige Kaninchen zuletzt auch intraperitonäale Einspritzungen. Die Menge der Eiterbouillon war eine sehr verschiedene, ich begann meist mit 0,3 ccm und stieg bis auf 15, einmal sogar auf 25 ccm, die allmählich steigenden Dosen wurden in drei- bis fünftägigen Zwischenräumen mehrere Wochen bis mehrere Monate lang gegeben. Die wahrnehmbaren Reactionen bestanden in Temperatursteigerung, Abgeschlagenheit, Eiweiss, auch Blut im Urin, Schmerzen an der Injectionsstelle, bisweilen trat nach einigen Wochen Durchfall auf, die Thiere magerten stark ab bis zum völligen Fettschwund. Unter Krämpfen trat der Tod ein.

Bei der Section fanden sich subcutan am Rücken erbsen- bis apfelgrosse kuglige Heerde vor von weissem rahmig-flüssigen

bis gelbem dick-käsigen Eiter erfüllt, aus dem sich unschwer wieder Staphylokokken, oft gleich in Reinculturen züchten liessen. In einzelnen Fällen waren auch zwischen den Muskeln oder unter dem Bauchfell längs der Wirbelsäule oder neben der Niere Heerde vorhanden, dann nehmlich, wenn beim Einstich die Canüle der Pravaz'schen Spritze zu tief gerathen war, was sich bei der Unruhe der Thiere nicht immer vermeiden liess. Metastasen in den Lungen fehlten gänzlich, ebenso Endocarditis, einmal war eine eitrige Kniegelenksaffection vorhanden, eine eitrige Peritonitis zeigte ausser den intraperitoneal gespritzten ein Kaninchen und ein Meerschweinchen, zweimal wurde Fettmetamorphose des Myocardiums, einmal Fettmetamorphose der Leber constatirt, häufig waren parenchymatöse Leber- und Nierenentzündungen, selten Darmhyperämien. Die Milzen waren theilweise blass, theilweise dunkelroth und hyperämisch, zweimal stark schwarz pigmentirt, die Follikel oft gross und auffällig hervorragend, ohne dass jedes Mal daraus, wie sich später zeigte, auf amyloide Veränderung geschlossen werden konnte. Die Consistenz der Organe war ebenfalls eine ganz verschiedene und ohne Bedeutung in Bezug auf Amyloid. Das Knochenmark war fast stets bläulich-dunkelroth, sulzig, selten blass, gelblich-rosa. Als Todesursache musste gewöhnlich Marasmus angenommen werden; dabei will ich bemerken, dass trotz der Abmagerung die Fresslust der Thiere bis zuletzt (zwei oder ein Tag vor dem Tode) nicht nachzulassen schien. Auffällig war eine Zeit lang der Befund von Coccidien in der Leber der Kaninchen, auch die Räude trat einmal epidemisch in den Ställen auf, wodurch ein Thier vorzeitig zu Grunde ging.

Im Besonderen wurden die verschiedenen Organe eines jeden Falles eingehend untersucht, frisch und in Paraffin-Einbettung, nachdem die Theile in mannichfacher Weise fixirt und gehärtet waren. Die gewöhnliche Alkoholhärtung bot fast ausnahmslos eben so gute Bilder dar wie die übrigen umständlicheren Methoden. Am genauesten wurde die Milz vorgenommen als dasjenige Organ, in welchem die amyloide Substanz sich erfahrungs-gemäss zuerst entwickelt, daneben das Knochenmark, in dem man von jehler Veränderungen bei Amyloiderkrankung zu finden hoffte, in zweiter Linie kam die Leber an die Reihe, dann der Darm,

Magen, Nieren, Speicheldrüsen, Herz etc., schliesslich auch der Eiter der Abscesse und das Blut der kranken und todten Thiere.

Um die Veränderungen, die sich, wie schon erwähnt, in fast der Hälfte der Fälle zeigten, als Amyloid zu bezeichnen, bedurfte es der Nebeneinanderstellung und des Vergleichs mit dem Amyloid des Menschen; erst die Uebereinstimmung beider Substanzen in histologischer und chemischer Beziehung giebt das Recht, die beim Thier gefundene, durch die Injectionen erzeugte Masse auch mit demselben Namen zu belegen.

Zu diesem Zwecke unternahm ich es, von allen amyloid verdächtigen Leichen, die in den letzten dreiviertel Jahren im Pathologischen Institut zur Section kamen, die Milzen (eventuell auch die übrigen Organe) zu untersuchen.

Histologisch ergab sich absolut kein Unterschied zwischen Mensch und Thier in Bezug auf die neugebildete Substanz, sowie im Verhalten des umliegenden Gewebes. Wie frische Schnitte erkennen liessen, waren auch beim Thiere zumeist die Follikel befallen, nur selten war eine Affection der Gefässe vorhanden, die Pulpa war nicht isolirt betroffen, sondern nur secundär bei starker Follikelerkrankung. Am häufigsten bot das Milzpräparat folgendes Aussehen dar (Fig. 1, 2 und 5): die an und für sich ziemlich scharf begrenzten, zum Theil durch glatte Muskelbündel getrennten Follikel liessen eine bandartig um die Mittelarterien herumliegende Zone erkennen, die von scholligen, strukturlosen, fast hyalinen Massen eingenommen wurde. Im Centrum rings um die Arterie waren die lymphoiden Zellen gewöhnlich vermehrt und lagen sehr dicht, dann folgte die die Hälfte oder noch mehr bedeckende glasige Schicht und endlich nach aussen hin oft ein schmales Gebiet, in dem die Zellen in normaler Weise erhalten waren. Zupspräparate ergaben sehr deutlich den Unterschied zwischen den runden, kernhaltigen Zellen und den amorphen, kernlosen, zellgrossen, aber auch doppelt und mehrfach so voluminösen Schollen. Zwischen diesen waren im frischen wie im gehärteten Schnitte Spalten und Risse zu sehen, in denen einzelne Bindegewebs- und Lymphzellen, unversehrt oder mit schwach sichtbarem Kern und verkleinert lagen, oder es fanden sich nur noch Bröckel und Körner als Reste zerfallener Zellen vor.

Die erkrankten Gefässe waren verdickt, ihr Lumen eng, die

schollendurchsetzte Pulpa enthielt einige Male Riesenzenellen von beträchtlicher Grösse mit einem scharf contourirten Kern versehen (Fig. 2).

Die Verbreitung des Amyloids fand sich bei den verschiedenen Thierarten in ziemlich constanter Weise vor, die Kaninchen zeigten, mit zwei Ausnahmen, die Follikelerkrankung, die Hühner die Gefässaffection, während bei den Mäusen meist das ganze Organ befallen war; der anatomische Bau der Organe, die verschiedene Verbreitung der Arterien in ihnen mag die Ursache für dieses Verhalten sein.

Während die Follikelerkrankung mikroskopisch sehr leicht, oft auch schon makroskopisch durch die Anschwellung, die blasse Farbe, das starke Hervortreten aus dem umgebenden, mehr gerötheten Gewebe sicher zu erkennen war, bot dies in den Fällen, wo nur die Gefäße betroffen waren, grosse Schwierigkeiten. Genau konnte man da die Veränderung eben so wenig diagnostizieren wie beim Menschen in den betreffenden Fällen.

Auch bei den übrigen Organen war — hier besteht ein Gegensatz zu der Amyloiderkrankung des Menschen, wo auch Leber und Glomeruli der Niere, ähnlich der Milz, grössere nur schollenhaltige Bezirke aufweisen — die fast ausschliessliche Gefässerkrankung nicht leicht ohne andere Umstände sichtbar, dazu bedurfte es der Anwendung charakteristisch wirkender Reagentien. Damit komme ich zum zweiten und wichtigsten Punkte, zum chemischen Verhalten des Amyloids.

Boten die histologischen Zustände keine Abweichungen von denen des Menschen dar (nur die Ausdehnung der Erkrankung ist bei Thieren eine beschränktere), so finden sich hier Differenzen, die bei sorgfältiger Prüfung trotz oft wiederholter Versuche bestehen bleiben. Da zeigte sich aber, dass nicht nur zwischen Thier und Mensch, sondern auch zwischen Mensch und Mensch Unterschiede bestehen, dass nicht überall mit gleichen Mitteln gleiche Resultate erzielt werden. Am auffälligsten war dies Verhalten bei derjenigen Reaction, die zum Namen „Amyloid“ die Veranlassung gegeben hat.

Von 13 seirten Amyloidleichen liess sich nur 8 mal die Milz, 7 mal die Nieren mit Jodschwefelsäure blau färben, während in den restirenden Fällen nur eine violette, grüne, bezw. braun-

rothe Farbe zu erreichen war, trotz aller Modificirungen, in denen die Versuche angestellt wurden, mit mehr und mit weniger stark concentrirter Lugol'scher Lösung, Schwefelsäure und Salzsäure und zwar in langsamer, wie schneller Einwirkung. Wenn es da einem der geübtesten Mikroskopiker (Prof. O. Israel) nicht gelang, die blaue Reaction hervorzurufen, so darf ich wohl mit gutem Recht behaupten, dass da die Schuld des Misslingens nicht in der ungeschickten Ausführung der Reaction, sondern in der Substanz selbst liegt. Bei näherer Betrachtung der Fälle war ersichtlich, dass gerade die versagten, bei denen die Ausbreitung des Amyloids eine massenhafte war, wo die Organe wie überschwemmt damit waren, wo es z. B. nicht nur in der mittleren Zone der Leberacini lag, sondern gleichmässig über alle drei vertheilt war. Daraus kann vielleicht geschlossen werden, dass die Ablagerung schnell vor sich ging, dass die Substanz, rasch entstanden, nicht zu ihrer höchsten Ausbildung hinreichend Zeit gehabt hatte.

Wenn als die höchste Potenz des „Amyloid“ die Blaufärbung angesehen wird, so ist es in zweiter Linie die einfache Jodreaction, die für beweisend gehalten wird; in ihr finden sich alle menschlichen Amyloide wieder zusammen, so dass es nicht Wunder nimmt, sie auch durch die dritte Art, die Färbung mit Anilinstoffen, alle wieder gleichmässig vereint zu sehen. Auf einen Unterschied möchte ich da aber doch noch aufmerksam machen, der darin besteht, dass die blauwerdenden Amyloide, nach der Birch-Hirschfeld'schen Methode gefärbt, auch dann noch das leuchtende Roth zeigen, wenn die differenzirende Essigsäure länger als fünf Minuten eingewirkt hatte, während die nur violett bis braunroth werdenden dann, einige Male sogar schon vor dieser Zeit, ein deutliches Ablassen der Farbe fast bis zur völligen Entfärbung erkennen liessen.

Bei den Thieren, die die erwähnten Veränderungen zeigten, gelang es nun in keinem einzigen Präparat, die Blaufärbung zu erzielen; nach den beim Menschen bestehenden Verschiedenheiten wird man deswegen allein nicht berechtigt sein, den Namen Amyloid zu verwerfen. Denn wenn er eigentlich nur eine Aehnlichkeit der Jod-Schwefelsäurereaction gewisser menschlicher Substanzen mit der Jodreaction der Stärkekörner andeuten

sollte, so ist man doch im Laufe der Jahre bei mehreren pathologischen Bezeichnungen so weit gekommen, dass man nicht ohne Weiteres vom Namen auf das Wesen der Veränderung schliessen darf und jetzt von Amyloid ohne Blaufärbung mit demselben oder mit eben so wenig Recht spricht wie von bronzed skin ohne Pigmentirung der Haut, wie von Scharlach ohne Exanthem. Wenn wir daher bei einer Section die derbe Milz mit den glänzenden, glasigen, sagoähnlichen Körnern als amyloide bezeichnen, so wollen wir in keiner Weise damit voraussagen, ob die Jod-Schwefelsäurereaction eine blaue Färbung der Follikel ergiebt, oder vielleicht nur eine schmutziggrüne, die Art der Veränderung ist allein ausschlaggebend für den Namen, ihr Wesen wird durch mehr als durch eine blaue Farbnuance, eine Eigenschaft, bestimmt.

So gern ich auch die Blaufärbung bei den Thierpräparaten gesehen hätte, begnüge ich mich jetzt, eine violette, grüne und rothbraune zu erreichen; in dieser Folge scheinen die Farben die absteigende Intensität der Veränderung anzudeuten. Beim Menschen ergab sich in den fünf, bzw. sechs blau-negativen Fällen dreimal eine violette, je einmal eine grüne und bordeauxrothe Farbe, bei den 22 Thieren, die mir die Veränderung zeigten, erhielt ich einen violetten Ton in acht Fällen (ich notirte zweimal violett, einmal grünviolett, viermal braunviolett, einmal rothviolett), einen grünen in 2, einen braunrothen in 6 Fällen, zweimal blieb alles gleichmässig gelb, nach längerer Wirkung braun und zuletzt grün, die Reaction versagte hier also ganz, viermal wurde das frische Material nicht untersucht.

An gehärteten Präparaten die blaue Farbe zu erzeugen, ist schon an den besten menschlichen sehr schwierig, ich gab den Versuch an den Thierobjecten, die nicht einmal frisch sich geblaut hatten, nach einmaligem Misslingen definitiv auf.

Was nun die blosse Jodreaction anbetrifft, die beim Menschen stets gelingt und wohl geeignet wäre, als Kriterion zu gelten, wenn man sich überhaupt an eine Eigenschaft halten will, so verhielten sich die Thiermilzen ihr gegenüber in dreierlei Weise. Bei vorsichtigem Zusatz von Lugol'scher Lösung trat 6mal die rothe, fast orangerothe Farbe an den veränderten Theilen auf, 8mal war der Ton ein bräunlicher, das nicht er-

griffene Gewebe war dabei gelb geblieben und nahm erst nach längerer Jodwirkung ein gleichtiefes Braun an, 2mal war durch Jod kein Unterschied in der Färbung herzustellen, in den übrigen 6 Fällen ist über die frische Untersuchung mit Jod nichts notirt. An gehärteten Objecten zeigten sich ähnliche Resultate, nur in viel schwächerem Grade.

In dritter Reihe wandte ich die jetzt so beliebten, die farbenprächtigsten Bilder gebenden Anilinfarbstoffe an (Fig. 3 und 5), die in keinem Falle ihre Wirkung versagten, wo mikroskopisch die kernlosen transparenten Massen schon ohnedies als Amyloid angesehen wurden, und in den Fällen, wo nur die Gefässe erkrankt waren, die Veränderung erst deutlich machten. Es reagirten in dieser Weise 22 Thiere, d. h. die Zahl, nach der ich meine Versuche als positive bezeichne. Methyl- und Gentianaviolett, Dahliablau und Jodgrün wurden mit gleichem Erfolge benutzt, die von Birch-Hirschfeld angegebene Methode zur Differenzirung des Amyloids von Hyalin und anderen ähnlichen Stoffen trug ebenfalls dazu bei, die künstlich erzeugte Substanz dem Amyloid anzureihen. Aber in gleicher Weise wie bei dem menschlichen wirkte auch hier die Essigsäure destruiren auf die bunten Bilder ein, nach längerer Zeit, öfters auch schon nach fünf Minuten blasste das Rubinroth zu einem matt Rosa ab, in einzelnen, sonst ganz charakteristischen Fällen war sogar nach fünf Minuten kaum noch etwas von einem röthlichen Farbenton zu entdecken — ich halte indess nicht dafür, dass gerade fünf Minuten und 0,0075 mm Dicke der Schnitte für das Sein oder Nichtsein von Amyloid entscheidend sind, da alle Uebergänge vom blassen bis zum leuchtenden Roth sich zeigen, die gegebene Vorschrift aber, durch Versuchsreihen gefunden, nur ausdrücken soll, wie am leichtesten ein gutes Resultat erlangt werden kann. Das Abblasen des Roths steht in keinem Verhältniss zum Grade der Ausbreitung des Amyloids, breite, kernlose Zonen in den Follikeln wurden blass, während schmalere bisweilen ein stärkeres Roth zeigten, zum Grade seiner Entwicklung lässt sich vielleicht beim Kaninchen ein ähnliches Verhältniss wie beim Menschen construiren, besonders aber bei der Maus, wo das stärkste Ergriffensein der Follikel und Pulpa, gleichsam die Ueberschwemmung mit Amyloid, die

schlechtesten Reactionen ergab. Mit dem Gelingen der Jod-Schwefelsäurereactionen liessen sich die Birch-Hirschfeld'schen meist in eine Parallele bringen, die deutlicheren Violettöne entsprachen indess nicht jedesmal dem dunkleren Roth, es handelt sich eben um zwei verschiedene Eigenschaften derselben Substanz, die durch mehr als durch blosse Färbungen charaktersirt ist, wenn auch für ihre Erkennung die mikrochemischen Reactionen von grösster Bedeutung sind.

Von nicht specifischen Färbungen wandte ich am häufigsten die van Gieson'sche an, die neben anderem auch das Amyloid röthet. Mit Hämatoxylin-Eosin war der Unterschied zwischen kernhaltigem Gewebe und den nekrobiotischen Massen sehr schön zu sehen.

Ein Nachtheil, den alle Amyloidsärbungen mit einander theilen, besteht in der Schwierigkeit, die Präparate längere Zeit gefärbt aufzubewahren, die Farbenunterschiede schwinden bald, oft rascher, oft weniger schnell, das Eigenthümliche bleibt ihnen aber, dass auch ältere verblasste Schnitte die distinete Färbung bei Zusatz neuer Farblösung sofort wieder annehmen. Am besten hielten sich die Farben in concentrirter Kali-aceticum-Lösung mit nachfolgendem Lackeinschluss, weniger gut in Lävulose, während sie in Glycerin sehr bald diffundirten, bei der Balsameinbettung vorausgehenden Alkoholbehandlung aber fast stets gänzlich ausgezogen wurden. Ob die Objecte frisch untersucht oder mit dem Gefriermikrotom oder in Paraffin geschnitten wurden, hatte auf die Haltbarkeit der dargestellten Reactionen keinen Einfluss.

Wenn ich bisher vorzugsweise von der Milz gesprochen habe, so geschah das deswegen, weil sie die stärksten Veränderungen und das leichteste Object für die Untersuchung darbot. In den übrigen Organen waren es ausschliesslich die Gefässe, die sich verändert zeigten, mit den violetten Farbstoffen traten die Contraste in blau und roth, mit Jodgrün in grün und roth besonders scharf hervor, während sie durch das Gelb und Braun der Lugol'schen Lösung weniger stark sich ausprägten.

Von den Leberpräparaten zeigten die veränderten ein oft ausserordentlich weit verbreitetes Ergriffensein der kleinen Blutgefässe, besonders der in der peripherischen Zone der Acini gelegenen Capillaren, die mit Violett gefärbt, deutliche rothe Säume

um das Netzwerk der Leberzellenreihen bildeten, ein sehr gefälliger, durch die Frische der Farben erfreulicher Anblick (Fig. 4). Mit Jod färbten sich die Ränder bräunlich, nicht so scharf vom Gelb der Zellen sich abhebend, zur Controle war aber die Jod-reaction nothwendig, da nach Cornil¹⁾ auch Gallenfarbstoff und Bilirubinkristalle, ebenso Gallenpigment in den Leberzellen mit Methylviolett zunächst roth gefärbt erscheint. Alle Lebern, die frisch untersucht positive, gehärtet negative Resultate ergaben, sind daher bei blosser Methylviolettprobe nicht als amyloide anzusehen. Die Leberzellen waren meist nicht sichtbar verändert, nur an wenigen Stellen deutete eine mattre Färbung der Kernsubstanz auf eine Beeinträchtigung der Zelle hin. Zellenähnliche Schollen wie in der Milz fand ich in der Leber nicht.

Am Magen und Darm waren es vorzugsweise die Gefässe in der Submucosa, die betroffen waren, in den Zotten selbst war eine Erkrankung nur wenige Male nachzuweisen.

Die Nieren liessen in keinem meiner Fälle eine Veränderung der Glomeruli und Tubuli contorti erkennen, die mit Amyloid Aehnlichkeit hatte, ich fand nur eine fleckweise Erkrankung der kleinen Arterien in der Marksustanz und der Membrana propria der grösseren Sammelröhren, deren Epithel dadurch nicht gelitten hatte. In der mit Methylviolett oft intensiv roth gefärbten Papillenspitze waren es dagegen die hyalinen Membranen der Harnkanälchen, die sich roth färbten, da versagte dann auch die Jodreaction.

Speicheldrüsen, Pankreas, Lymphdrüsen zeigten selten eine Veränderung, es waren dann immer nur vereinzelte kleine Arterien, deren Wand erkrankt war und mit den verschiedenen Methoden eine vom übrigen Gewebe abweichende Färbung gab.

Das Knochenmark, an dessen Untersuchung ich mit den grössten Hoffnungen herantrat, bot nur in einem Falle, der auch im Uebrigen durch die vortrefflichsten Reactionen ausgezeichnet war, Veränderungen dar, die vielleicht mit der Amyloidbildung in Beziehung stehen. Mit der van Gieson'schen Färbung nahmen die Wandungen mittelgrosser Arterien eine rothe Farbe an, was auf eine hyaline Entartung schliessen lässt, daneben fand ich dann noch innerhalb der Gefässe neben den Blutkörperchen zwei-

¹⁾ Archives de physiol. norm. et pathol. 1875. p. 671.

bis dreimal so grosse, rosenroth gefärbte, hyaline Kugeln, eine Form der hyalinen Entartung, auf die Klebs¹⁾) aufmerksam macht, sie aber bisher nur in Gehirnarterien gefunden hat. Die normalen Theile hatten eine gelbe Farbe angenommen, nur die Granula der Leukocyten waren in mehreren Fällen stark geröthet. Die Riesenzenellen zeichneten sich durch nichts von den im normalen Knochenmark beobachteten aus, im Gegensatz zu den zweimal in den Milzen von Mäusen gefundenen, die frisch mit Methylviolett untersucht, anscheinend eine Amyloidreaction ihres massigen Inhalts zeigten, gehärtet aber sich genau ebenso wie die anderen wohlerhaltenen Zellen färbten.

Im Blut und Eiter irgendwelche, eine charakteristische Reaction gebende Veränderungen nachzuweisen, ist mir nicht gelungen, die von Czerny²⁾ geschilderten Braunfärbungen sind mir nicht besonders aufgefallen, nur wenige tiefbraune formlose Klümpchen konnte ich mit Ehrlich'scher Jodgummilösung zwischen den gelb gefärbten Blutkörperchen erkennen. Auffällig war einmal der Befund von ganz kleinen schwarzen, bei auffallendem Licht stark glänzenden runden Körperchen innerhalb der rothen Blutzellen im Knochenmark einer Maus, bei einer zweiten fand ich dieselben Körnchen in einer Milzzelle und zwar bei frischer Untersuchung, so dass es sich kaum um Kunstprodukte handeln kann; dass diese Körnchen mit den anderen Veränderungen in Zusammenhang stehen, möchte ich nicht ohne Weiteres behaupten.

Im Anschluss hieran gebe ich eine tabellarische Uebersicht (S. 27—29) der von mir ausgeführten Versuche. Diejenigen, bei denen die Thiere in den ersten Tagen durch ungeschickte Operation starben, lasse ich ganz bei Seite.

In der Tabelle sind mit K, W, N Kaninchen, G Meerschweinchen, M weisse Mäuse bezeichnet, + und — deuten die positiven und negativen Resultate an, bei ± ist die Untersuchung unterblieben. Das Hauptgewicht habe ich auf das Verhalten der Milz gelegt, die übrigen Organe sind, durch ihren Anfangsbuchstaben (D Darm, L Leber, N Niere, M Magen, Sx Submaxillaris, P Pankreas, Kn Knochenmark) bezeichnet, in der letzten Rubrik aufgeführt. GA Gewichtsabnahme.

¹⁾ Allgem. Pathologie. 1889. S. 128.

²⁾ Archiv für experiment. Pathol. und Pharmakol. 1893. S. 209.

Name des Thiores	Dauer des Versuches in Wochen	Reaktionen der Milz mit						Uebrige Organe und besondere Bemerkungen
		Jod- Schwefel- säure	Jod	Anilinfarben	Hirschfeld's Reaktion	Bücherleid's Reaktion	fische	
K ₁	7	25,1	+	+	+	+	+	D+. Milzkrankung auf die Gefäße beschränkt.
K ₂	3	10,1	+	+	+	+	+	D-. Darm hyperämisch.
K ₃	3	13,2	-	-	-	-	-	An Ränder gestorben.
K ₄	3	4,7	+	+	+	+	-	D-. N-. Sx-.
K ₅	17	118,3	-	-	-	-	matt	L+ (alle Zonen der Acini). N-. Schnauze durch Räude zerstört. Herz: Fettmetamorphose.
K ₆)	(24) 2½	180,3	-	-	-	-	matt	GA 2650—1800 g.
K ₇)	(11) 2½	42,1	+	+	+	+	+	Räude. D+. L+. N+. M+. P+. Sx+. Kn hyaline Gefäße und Kugeln.
K ₈)	(8) 5	24,2	+	+	+	+	+	D+. L+. N-.
K ₉)	(5) 2½	25,4	+	+	+	+	+	Sx-. M-.
K ₀	6	—	-	-	-	-	+	GA 1150—820 g. GA 1330—1000 g. L+. N+. Kn rothe Granula der Leukocyten. Wurde nicht geimpft, sondern ging an Eiterung zu Grunde, die durch eine Quetschwunde entstanden war.
M ₁	4	6,3	+	+	+	+	+	Impfung abgebrochen.
M ₂	2	1,8	+	+	+	+	matt	

¹⁾ Besondere Bemerkungen: zu K₆: während der letzten 7 Wochen mit Fäulnissbakterien und Streptokokken, erst die letzten 2½ Wochen wieder mit Staphylokokken geimpft. K₇ dersgl. K₈ erhielt 0,8 ccm Eiter von einer menschlichen Amyloidleiche subcutan, erst die letzten 5 Wochen die Staphylokokken-Bouillon eingespritzt. K₉ erhielt 0,3 ccm vom selben Eiter intramuskär, Bouillon die letzten 2½ Wochen.

Name des Thieres	Dauer des Versuches in Wochen	Reaktionen der Milz mit						Uebrige Organe und besondere Bemerkungen
		Jod	Jod-Schwefel- Säure	Anilinfarben	Hirschfeld's Reaktion gebarreter, Birke's Reaktion	fische braun	rotbl., rothliche grün,	
M ₃	2	2,5	—	+	++	++	—	D+. L+. Kothabscss.
M ₅	2	1,4	—	+	—	—	—	In der Milz viele röthlich-bläue, kerrlose, zellähnliche Gebilde bei Untersuchung mit Methylviolett. Beginnende Amyloid-Erkrankung?
M ₆	5	5,9	—	+	—	—	—	L+ (peripherische Zone), Fettmetamorphose. In der Milz Riesenzellen, Pigment, Vacuolen, glänzende Körnchen in den Zellen.
M ₇	2	2,7	?	—	—	—	—	GA 180—150 g. GA 190—170 g. (Mit Staph. pyog. albus geimpft.)
M ₈	3	3,7	+	—	—	—	—	blass L+ (peripherische Zone), Fettmetamorphose. In der Milz Riesenzellen, Pigment, Vacuolen, glänzende Körnchen in den Zellen.
G ₁	1	3,7	—	—	—	—	—	GA 230—160 g. GA 320—270 g.
G ₂	1	3,7	—	—	—	—	—	GA 410—250 g. Peritonitis.
G ₃	2	3,9	—	—	—	—	—	L+. D+. N—. Peritonitis. Versuch mit Unterbrechungen.
G ₄	7	33,8	—	—	—	—	—	Gefässerkrankung der Milz. Ein nach 10 Wochen excidiertes Lebersstück zeigte kein Amyloid.
G ₅	23	90,4	—	—	—	—	—	Versuch mit Unterbrechungen. Tod in Aethernarkose.
Hahn ¹⁾	(16) 6	218,8	+	—	—	—	—	Ein nach 8 Wochen excidiertes Leberstück zeigte kein Amyloid.
Huhn ¹⁾	(19) 4	120,2	—	—	—	—	—	Die ersten 5 Wochen mit Päulnissbakterien und Streptokokken geimpft; zuletzt 11 Wochen intraperitoneal.
W ₁	(19) 14	über 200	—	—	—	—	—	5 Wochen nach der letzten Injection gestorben. Negativer Befund

W ₂	(16) 11	211,6	-	dito. 8 Wochen intraperitoneal. Peritonitis. Fettmetamorphose des Myocards. Coccidien in der Leber.
W ₃	(19) 14	über 200	-	dito. 11 Wochen intraperitoneal. L-, schwarzes Pigment. N-
W ₄	(11) 6	55,5	+	dito. D+, N+. Sx+. GA 990—775 g.
W ₅	(18) 13	210,1	+	dito. Milz klein, blass, zeigte Gefässenkrankung. Peritonitis. D+, N+, L+. M+. Sx+. GA 1150—910 g.
W ₆	(7) 2	27,4	-	dito. 10 Wochen intraperitoneal. GA 1270 bis 1110 g.
W ₇	(7) 2	27,4	-	dito. Milz bläss. Coccidien in der Leber. GA 1220 bis 1120 g.
W ₈	(6) 1	13,4	-	dito; dann mit abgetödeten Staphylokokken. Coccidien in der Leber. GA 690—530 g.
N ₁	11	118,3	+	D+, L+. N+. Linkes Kniegelenk vereitert. Bakterielle Niereninfarkte.
N ₂	6	44,6	+	L+, N+. D-. M-. Peritonitis.
N ₃	2	21,3	+	Coccidien in der Leber.
N ₄	2	21,3	+	Milz gross, blass.
N ₅	3	21,3	+	Auffallend grosse Follikel in der Milz.
N ₆	4	37,9	+	D+. L-. N-. Beginnende Erkrankung.
N ₇	7	54,5	++	L+, N+. Sagonitz. GA 790—710 g.
N ₈	11	120	++	Milzfollikel sehr deutlich hervortretend.
N ₉	4	35	++	Milz gross, deutliches Hervortreten der Follikel.
N ₁₀	4	35	++	Coccidien in der Leber.
N ₁₁	2	10	++	Breite eiternde Hautwunden am Rücken. Sehr grosse Abmagerung.
N ₁₂	15	120	—	
N ₁₃	2	2,0	—	
4 Katzen				

¹⁾ Hahn und Huhn: die Einspritzungen erfolgten in den Brustmuskel, beim Hahn die letzten 2 Wochen in die Leibeshöhle, nachdem sie über 2 Monate ganz ausgesetzt worden waren. Beim Huhn zeigte das excidierte Leberstück sehr deutlich blaue Zellen mit rothen Rändern (Gefässen) bei Färbung mit Methylviolett, mit Jod und gehärtet waren die Amyloid-Reaktionen aber negativ, dem entsprach dann auch bei der Section der Milzbefund.

Es ergiebt sich also, dass von 48 geimpften Thieren, oder von 39, wenn man die anscheinend unempfänglichen (Meerschweinchen und Katzen) fortlässt, 21 die amyloiden Veränderungen zeigten, also etwa die Hälfte. Die meisten positiven Resultate zeigten die in der 3. bis 8. Woche zu Grunde gegangenen, denen das eine Thier (K_0) hinzuzurechnen ist, das ungeimpft an einer eiternden Wunde starb, im Uebrigen aber dieselben Reactionen ergab, bezw. nicht ergab, wie die anderen Thiere. Dieser Vergleich des natürlichen Thieramyloids mit dem künstlich erzeugten ist besonders werthvoll für den Beweis, dass die experimentell dargestellten Massen wirklich amyloide sind. —

Es bleibt noch übrig, die Unlöslichkeit der bei den 21 Thieren gefundenen Substanz in Säuren und Alkalien zu erwähnen, ein Verhalten, das mit dem des Menschenamyloids übereinstimmt.

Die von Kühne und Rudneff¹⁾ gegebene Analyse des Amyloids liess sich bei den kleinen Organen der Thiere nicht anstellen, zudem sind die gefundenen Zahlen auch noch nicht zweifellos endgültige, da dem am besten isolirten Amyloide bisher immer noch verunreinigende Substanzen anhafteten.

Verschiedentlich von mir angestellte Pepsin- und Trypsin-Verdauungsversuche führten ebenfalls wegen der zu geringen Menge des Materials zu keinem Resultat, es blieben nach 24ständiger Digestion einmal Theilchen zurück, in denen mikroskopisch noch Zellen mit Kernen nachgewiesen wurden (in einem Controlversuch wurde Fibrin vollständig aufgelöst), ein anderes Mal waren die Reste so gering, dass eine deutliche Reaction damit nicht angestellt werden konnte.

Der Fäulniss widerstanden die Massen sehr gut, gerade mit den schon faulen Organen liessen sich die besten Reactionen hervorrufen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass die durch Staphylokokken-Injectionen erzeugte Substanz in den Organen, insbesondere in der Milz, der Thiere eine solche Uebereinstimmung mit der beim Menschen als „Amyloid“ bekannten zeigt, dass sie meines Erachtens zur selben Klasse gerechnet, für Amyloid

¹⁾ Dieses Archiv. Bd. 33. S. 66.

gehalten werden muss. Genau entspricht sie dem menschlichen nicht, Unterschiede bleiben vorerst, besonders bei Anwendung der Jod-Schwefelsäure-Reaction bestehen, die durch die Specificität des Thiereiweisses im Gegensatz zu dem des Menschen bedingt sein könnten. Demgegenüber muss betont werden, dass auch bei den verschiedenen Fällen von Menschen-Amyloid die Reactionen ungleich sind. Es bleibt die Annahme daher am wahrscheinlichsten, dass wir es nicht mit verschiedenen Arten von Veränderungen zu thun haben, sondern mit verschiedenen Stufen eines und desselben Prozesses, dessen höchste Ausbildung dann erreicht ist, wenn die Jod-Schwefelreaction die blaue Farbe hervorruft.

Ich habe mich darauf beschränkt, die Krawkow'schen Versuche zu bestätigen und seine Annahmen zu begründen; die einzelnen Stufen des richtig gefundenen Weges zu erforschen und damit der Entstehung des Amyloids näher zu kommen, soll einer weiteren Arbeit vorbehalten bleiben.

Zum Schluss will ich noch darauf hinweisen, dass die Versuche neben rein wissenschaftlichem vielleicht auch praktischen Werth erlangen können. Sicher ist, dass durch Staphylokokken Amyloid entsteht, zweifelhaft, aber wohl möglich, dass es nur so entsteht, denn die Erfahrung beim Menschen spricht fast stets dafür, ebenso die negativen Resultate, die ich bei Impfungen mit Streptokokken, *Bacterium coli*, Fäulnissbakterien, Andere¹⁾) mit Tuberculin u. s. w. erhalten hatte. Durch Impfung mit Blutserum amyloidkranker Thiere gelang es mir, Mäuse gegen die sonst sicher tödtliche Dosis Staphylokokken-Bouillon widerstandsfähig zu machen. Bei vielen Knocheneiterungen liegt die Hauptgefahr nicht in dem localen Uebel, sondern in der bei langer Dauer oft auftretenden amyloiden Veränderung der inneren Organe. Ob das Staphylokokken-Serum ein Mittel ist, diese Gefahr zu beseitigen, hoffe ich, durch Fortsetzung meiner Versuche feststellen zu können.

¹⁾ Carrière, Archiv. de Charcot. 1897. T. IX. Bei den Fällen von Czerny und Charrin (Terpenthinöl- und Pyocyanus-Injectionen) ist nicht angegeben, ob eiternde Wunden bestanden haben, von denen möglicher Weise Staphylokokken eingewirkt haben können.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

- Fig. 1. Schnitt aus der Kaninchenmilz (Fall K₇). Alkoholhärtung. Birch-Hirschfeld'sche Färbung, conservirt in concentrirter Kalii aceticum-Lösung. Vergrösserung 145. Vier quer durchschnittene Follikel. Die rosarothen Zonen sind amyloid, das braungefärbte die erhaltenen Zellkerne. In der Mitte der Follikel ist die Arterie innerhalb dicht nebeneinander liegender Lymphzellen zu erkennen.
- Fig. 2. Schnitt aus der Mausmilz (Fall M₈). Alkoholhärtung. Färbung mit Vesuvin-Eosin. Conservirung wie oben. Vergrösserung 120. Schrägschnitt durch einen Follikel, der grösstenteils amyloid verändert ist. In der Mitte die Arterie mit dicht liegenden Lymphzellen. Die Pulpa ist stark von amyloiden Massen durchsetzt; drei sehr grosse, intensiv gefärbte Riesenzellen in der Nähe des unteren Follikelrandes.
- Fig. 3. Doppelmesserschnitt aus der Kaninchenmilz (Fall N₇). Frisch untersucht. Färbung mit Dahliablau (nach Ehrlich). Conservirt in Kalii aceticum. Vergrösserung 52 mal. Die Follikel sind gänzlich amyloid (roth gefärbt), bis auf die Arterien in der Mitte, in der Pulpa einzelne amyloide Stellen (veränderte Capillare).
- Fig. 4. Doppelmesserschnitt aus der Kaninchenleber (Fall N₁). Frisch untersucht, Färbung mit Dahliablau. Vergrösserung 540 mal. Die amyloiden Capillare (roth gefärbt) umsäumen die Leberzellenreihen (blau). Die Kerne der Leberzellen sind fast überall sichtbar.
- Fig. 5. Schnitt aus der Kaninchenmilz (Fall K₉). Alkoholhärtung. Färbung mit Gentianaviolett, conservirt in Kalii aceticum. Vergrösserung 52 mal. Breite amyloide Zonen in den Follikeln, in deren Mitte die lymphoiden Zellen rings um die Arterie wohl erhalten sind
-