

mögen die Autoren immer bedenken, daß jede neue Farbe eine neue lithographische Platte und einen besonderen Druck erfordert, d. h. daß eine Tafel um so teurer wird, je größer die Zahl der einzelnen Farbtöne ist. Sobald es sich um eigenartige Färbungen handelt, sobald durch den Farbenton selbst etwas bewiesen werden soll, muß er natürlich genau wiedergegeben werden, aber wie häufig kommt es vor, daß die eine Figur einer Tafel in blau und rosa gehalten ist, weil das abgebildete Präparat zufällig mit Hämalaun-Eosin gefärbt war, während eine andere in rot, blau und gelb gehalten ist, weil zufällig eine van Gieson-Färbung angewandt worden war! Eine Blau-rosa-Färbung hier oder eine rotblaue dort würde dieselben Dienste tun, d. h. es könnten zwei oder gar drei Farbtöne und damit eine Menge Kosten gespart werden. Auch in dieser Beziehung sollten die Herren Anstaltsdirektoren ihren Schülern die nötigen Weisungen geben. Wer unverhältnismäßig viele oder sehr farbenreiche Abbildungen seiner Arbeit beizugeben wünscht, darf sich nicht wundern, wenn die Verlagshandlung von ihm einen Beitrag zu den Herstellungskosten der Tafeln verlangt. —

So erscheint also nun das Archiv von diesem Bande an in dem vergrößerten Format. Um den Preis nicht zu beträchtlich erhöhen zu müssen, soll bis auf weiteres der Band 30 Bogen enthalten, Verleger und Herausgeber behalten sich aber vor, falls das Bedürfnis dazu sich herausstellen und der Vertrieb es gestatten sollte, später bis auf die bisherige Bogenzahl (36) den Umfang des Bandes zu erhöhen.

Vertrauensvoll senden Verleger und Herausgeber diesen ersten Band der neuen Serie in die Welt, in der sicheren Erwartung, daß das Archiv auch in seiner neuen Gestalt sowohl bei den Mitarbeitern als auch bei den Abnehmern die alten Freunde behalten und immer wieder neue erwerben werde.

II.

Über die Todesursache nach intravenöser Injection von artfremdem Blutserum.¹⁾

(Aus dem Laboratorium für experimentelle Pathologie der University of Pennsylvania.)

Von

Leo Loeb, A. Strickler und Lucius Tuttle.

Im Verlaufe von Untersuchungen über Thrombose und Blutgerinnung schien es uns von Interesse, die Wirkung einer intravenösen Injektion von artfremdem

¹⁾ Die Mittel zur Ausführung dieser Versuche wurden uns von dem Rockefeller Institute for Medical Research zur Verfügung gestellt.

Blutserum, und insbesondere die Bedingungen, unter denen eine solche Injektion den Tod des Versuchstieres herbeiführt, näher zu analysieren. Soweit uns bekannt, liegen über diese Frage nur wenige Mitteilungen vor. Im wesentlichen handelt es sich hierbei um die Untersuchungen von L a n d o i s¹⁾ und P o n f i c k²⁾.

L a n d o i s fand, daß Hundeserum im Reagenzglas ein Zusammenkleben der Erythrozyten des Kaninchenblutes bewirkte; durch Ausziehen der agglutinierten Zellmassen bilde sich Stromafibrin. Gleichzeitig beobachtete L a n d o i s ein Austreten des Hämoglobins aus den veränderten Blutkörperchen. Andere Sera, wie Lammserum, Rinderserum usw. erwiesen sich als weniger stark hämolytisch für Kaninchenblutzellen.

So erklärte denn dieser Forscher den Tod nach intravenöser Injektion von artfremdem Serum als verursacht durch die Verstopfung kleiner Lungengefäße durch solche Pfröpfe von Stromafibrin, an die sich dann weiterhin eine Ausscheidung von plasmatischem Fibrin anschließen soll. Diese Annahme war geeignet, die dem Tode vorangehende Dyspnoe sowie die bei der Autopsie gefundenen Infarkte, Ödeme und Hämmorrhagien in der Lunge zu erklären.

Hier muß nun bemerkt werden, daß schon vor der Veröffentlichung von L a n d o i s N a u n y n³⁾ und F r a n c k e n gefunden hatten, daß Mittel, welche die Erythrozyten nach intravenöser Injektion zerstören, zur Thrombenbildung mit Fibrinausscheidung führen.

Die Ergebnisse von L a n d o i s fanden jedoch nicht allgemeine Anerkennung. Insbesondere fand P o n f i c k , daß Hunde große Mengen von artfremdem Serum vertragen konnten. Nach Injektion von Blut trat der Tod ein hauptsächlich als eine Folge von Nierenläsionen. Koagula, die sich in den Gefäßen fanden, bildeten sich infolge der Einführung der Injektionsnadel, oder waren erst postmortale entstanden. Also im wesentlichen bestritt P o n f i c k die Richtigkeit der von L a n d o i s gegebenen Erklärungen. Der Widerspruch in den Ergebnissen dieser beiden Autoren findet zum Teil darin seine Erklärung, daß P o n f i c k hauptsächlich mit Lammbut arbeitete, während L a n d o i s insbesondere die Wirkung von Hundeserum untersuchte. Als Versuchstiere benutzte L a n d o i s Kaninchen oder Hunde.

Wir beschränkten uns in den folgenden Versuchen auf die Prüfung zweier Sera, und zwar wählten wir Hunde- und Rinderserum. Als Versuchstier diente uns ausschließlich das Kaninchen. Wir zogen es vor, die Wirkung einiger weniger Sera auf eine einzige Tierart eingehend zu analysieren, anstatt eine größere Anzahl von Sera in einer im einzelnen geringeren Zahl von Versuchen zu prüfen.

¹⁾ L a n d o i s , Die Transfusion des Blutes. Leipzig 1875.

²⁾ P o n f i c k , Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Transfusion. Virch. Arch. Bd. 62, 1875.

³⁾ N a u n y n , Untersuchungen über Blutgerinnung im lebenden Tiere und ihre Folgen. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1873 Bd. 1.

I. Versuche mit Hundeserum.

1. Injektion von auf Eis gehaltenem, möglichst unverändertem Hundeserum.

Zu diesen Versuchen dienten 63 Kaninchen. Das Blutserum von ungefähr 20 Hunden wurde in den verschiedenen Experimenten benutzt. Wesentliche Unterschiede zwischen den Blutsäften fanden sich nicht. Nach stattgefunder Koagulation wurde das Blut im Eisschrank gehalten; das Serum wurde vor dem Gebrauch zentrifugiert. Während manche Säfte hämoglobinfrei waren, enthielten andere mehr oder weniger gelöstes Hämoglobin. Falls die Hunde kürzere Zeit vor der Blutentnahme gefüttert worden waren, enthielt das Serum emulgiertes Fett. In der Mehrzahl der Versuche fasteten die Tiere 20 Stunden vor der Blutentnahme. Fett- oder Hämaglobingehalt der Säfte schien auf die Wirksamkeit der Säfte keinen stärkeren Einfluß auszuüben. Zur Injektion wurde eine Spritze benutzt; in den meisten Versuchen geschah die Einspritzung durch die Ohrvene des Kaninchens; doch wurde in einigen Fällen die Vena jugularis externa hierzu verwendet. Die Einflußgeschwindigkeit betrug in der Mehrzahl der Versuche 4 ccm pro Minute; in einer größeren Zahl von Experimenten wurde eine langsamere Injektion (2 ccm pro Minute) in Anwendung gebracht. Auch in diesem Falle ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede, die auf Verschiedenheit der Einflußgeschwindigkeit zurückgeführt werden konnten. Bei der Feststellung der Wirkung der Säfte ist es nötig, das Gewicht der Kaninchen zu berücksichtigen, da ein größeres Tier auch eine größere Quantität Blutserums vertragen kann. Die im folgenden angegebenen Quantitäten injizierten Blutserums sind daher alle auf 1000 g Kaninchen reduziert.

Letale Dose des Hundeserums. Die minimale Dose, die innerhalb der ersten zehn Minuten nach Beendigung der Injektion den Tod herbeiführt, liegt ungefähr zwischen 7 bis 10 ccm pro Kilogramm Kaninchen. Verschiedene Säfte sind nicht gleich stark; aber falls das Serum in der oben angegebenen Weise behandelt wird, sind die Abweichungen nicht sehr bedeutend. Zuweilen findet man Säfte, von denen 5 bis 6 ccm pro Kilogramm Tier innerhalb der ersten 10 Minuten töten.

Injiziert man verschiedene Quantitäten desselben Serums in mehrere Kaninchen, so findet man, daß Erhöhung der Dose den Tod beschleunigt; doch werden zuweilen kleine Unregelmäßigkeiten beobachtet.

Trägt man die Quantitäten des injizierten Serums auf eine Abszisse und die Anzahl Minuten bis zum Eintritt des Todes auf die Ordinate auf, so erhält man eine charakteristische Kurve, die zeigt, wie mit Zunahme des Serums die Zeit bis zum Eintritt des Todes erst sehr stark abnimmt und dann bei Zufügen von mehr Serum die Verkürzung dieser Periode immer geringer wird.

Einige Beispiele mögen angeführt werden, um die Variationen in dem Verhalten verschiedener Säfte zu zeigen.

Serum 16 (20 bis 24 Stunden alt). 7 ccm: Tod nach 6 Minuten; 7,2 ccm: Tod nach 6 Minuten; 7,8 ccm: Tod nach 2 Minuten; 8,6 ccm: Tod nach 3½ Minuten.

Serum 15. In drei Tieren, in denen je 10 ccm injiziert wurden, variiert die Zeit bis zum Eintritt des Todes zwischen 4 und 5 Minuten.

Serum 14. 8 ccm: Tier bleibt am Leben; 11½ ccm: Tod nach 2 Minuten.

Serum 13. 6,6 ccm: Tod nach 23 Minuten; 9,3 ccm: Tod nach 2 Minuten.

Serum 12. 8,3 ccm: Tod nach 34 Minuten; 10 ccm: Tod nach 3 Minuten; 11 ccm: Tod nach 2 Minuten.

Serum 3. 5 ccm: Tod nach 7 Minuten; 5 ccm: Tier bleibt am Leben; 9 ccm: Tier stirbt in 1½ Minute.

Serum 2 (8 Tage alt). 9,2 ccm: bleibt am Leben; 10 ccm: Tod nach 62 Minuten; 12 ccm: Tod nach 7 Minuten; 14 ccm: Tod nach 4 Minuten.

Serum 3 ist ein sehr stark, Serum 2 ein relativ schwach wirkendes Serum.

S y m p t o m e. Wird eine große Quantität von Serum injiziert, so stirbt das Tier entweder am Ende der Injektion oder während der Injektion unter Konvulsionen.

Tritt der Tod innerhalb der ersten 10 Minuten ein, so findet sich oft direkt nach Beendigung der Einspritzung eine kurze Latenzperiode, während der das Tier anscheinend wohl ist; dann beobachtet man Beschleunigung der Respiration, das Tier wird schwach; darauf nimmt die Schwäche und Dyspnoe zu, zugleich wird das Tier unruhig, sodann folgen Konvulsionen und Tod.

Tritt der Tod später ein, so findet sich erst eine Periode beschleunigter Respiration und Schwäche, dann erholt sich das Tier, um dann später wieder ähnliche Symptome zu zeigen und unter Konvulsionen zu sterben.

Doch können auch zuweilen die Konvulsionen ausbleiben; und in wenigen Fällen wurden keine Konvulsionen beobachtet, obwohl das Tier innerhalb der ersten 10 Minuten nach der Injektion starb.

Die zeitliche Aufeinanderfolge der Symptome ergibt sich aus folgenden Daten:

In einem Fall, in dem der Tod nach 9 Minuten eintrat, war 2½ Minuten nach Beendigung der Injektion die Atmung beschleunigt, nach 3 Minuten war Schwäche bemerkbar, nach 6 bis 8 Minuten wurde das Tier unruhig, die Schwäche nahm zu, die Dyspnoe war beträchtlich. Nach 8 Minuten traten Konvulsionen ein und eine Minute später starb das Tier.

In einem andern Fall, in dem der Tod nach 6 Minuten eintrat, war nach 2 Minuten die Respiration beschleunigt und erschwert, nach 3 Minuten war das Tier schwach, nach 4 Minuten Zunahme der Schwäche und Dyspnoe, nach 5 Minuten Konvulsionen und nach 6 Minuten Tod.

Befunde bei der Autopsie. Bei der sofort nach eingetretenem Tode vorgenommenen Autopsie finden sich zuweilen gar keine Veränderungen, falls der Tod spät eintrat; in der großen Mehrzahl der Versuche finden sich aber Veränderungen im Herzen und in den Gefäßen und in den Lungen. Im Herzen und in den Venen können sich Blutkoagula finden. Außerdem ist die rechte Seite des Herzens häufig erweitert. Die Blutkoagula bilden sich zuerst im rechten Herzen, können sich sodann auch in die Hohlvenen und die Portalvene fortsetzen

und, falls der Tod innerhalb der ersten Minuten nach Beendigung der Injektion eintrat, finden sich zuweilen auch Koagula im linken Herzen.

Aber diese Koagula finden sich nur, falls der Tod innerhalb der ersten 9 Minuten eintrat. Sie finden sich regelmäßig, wenn das Tier in den ersten 6 Minuten stirbt, sie sind oft, aber nicht immer vorhanden, falls der Tod zwischen der 6. und 9. Minute erfolgt, und sie sind regelmäßig abwesend, falls der Tod später als 9 Minuten nach Beendigung der Injektion stattfindet. Nur in einem Falle, in dem der Tod später eintrat, fand sich als eine Ausnahme ein kleines Gerinnsel im rechten Herzen vor.

Sind nun diese Herz- und Venenthromben die Ursache des Todes? Es läßt sich nachweisen, daß dies nicht der Fall ist. In mehreren Versuchen wurden das Herz und die Venen einiger Kaninchen bei gerade beginnender Agonie untersucht, und hier fehlten die Herz- und Venenkoagula, und erst diejenigen Tiere, die am Ende der Agonie in derselben Versuchsserie untersucht wurden, wiesen solche Thrombenbildung auf. Diese Herz- und Venenthromben bilden sich daher erst, nachdem die zum Tode führenden Veränderungen bereits eingesetzt haben; sie sind nicht verantwortlich für den Tod; es handelt sich hier um agonale Thromben.

Ähnliches gilt wahrscheinlich für die in den größeren Lungengefäßen häufig auftretenden Koagula, soweit sie makroskopisch erkennbar sind. Solche Koagula finden sich häufig, aber nicht immer, und sowohl bei Tieren, die innerhalb der ersten 10 Minuten nach der Injektion, wie auch bei solchen, die später starben. Aber auch hier konnten wir beobachten, daß anscheinend die Bildung dieser Koagula während der vor Beendigung der Agonie begonnenen Untersuchung¹⁾ zunahm. So konnten sich in der zuerst untersuchten Lunge keine Koagula finden, während sie sich in der zuletzt untersuchten Lunge fanden; oder beim ersten Einschnitt in die Lunge fanden sich noch keine makroskopisch sichtbaren Thromben, wohl aber bei dem zweiten oder dritten Einschnitt. Es handelt sich hier offenbar um eine agonal erfolgende Ausdehnung von Lungenthromben.

Weiter fand sich in den Lungen nicht selten Ödem; doch war dieses gewöhnlich nicht sehr beträchtlich und nicht die Todesursache. In vielen Fällen fehlte Ödem. Es fehlte sehr häufig, falls der Tod in den ersten 2 oder 3 Minuten eintrat, und fand sich zuweilen in Versuchen, in denen das Tier längere Zeit am Leben blieb und durch Chloroform getötet wurde.

Zuweilen fanden sich auch Hämorrhagien in der Lunge, und es kam vor, daß sie die typische Form eines Infarktes aufwiesen. Auch diese konnten sich in Fällen finden, in denen das Tier erst beträchtliche Zeit nach der Injektion starb.

Es ist nun sehr wohl möglich, wenn wir uns auch mit Sicherheit darüber nicht aussprechen können, daß Ödem der Lunge etwas häufiger vorgefunden wurde, in Fällen, in denen die Einflußgeschwindigkeit des Serums 4 ccm, als in denen, in welchen sie nur 2 ccm pro Minute betrug.

¹⁾ Zur Zeit der Vornahme der Autopsie waren die von der Cornea und Haut ausgehenden Reflexe erloschen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Lunge ergab sich als der bei weitem häufigste Befund Hämorrhagien um die Pulmonalarterienzweige. In einigen Fällen konnte man sehen, wie das Blut in die Arterienwand eindrang. Weiterhin füllte das Blut benachbarte Alveolen.

Zuweilen schloß sich an diese Blutungen Ödem in den umliegenden Alveolen an. Wie auch in andern Fällen von Ödem, führte das Eindringen von Flüssigkeit in die Alveolen zu einer Ablösung der Alveolarepithelien in einigen Alveolen.

Worauf die periarteriellen Blutungen beruhen, läßt sich nicht mit Sicherheit feststellen. Sie sind unabhängig von Thrombenbildung; sie fanden sich z. B. auch in einem Falle, wo das Tier nach Injektion von 10 ccm einer 4 prozentigen Natriumzitratlösung in die Ohrvene starb. Es handelt sich vielleicht um starke Kontraktion der Lungenarterien mit Erhöhung des Blutdrucks und um folgende Zerreißung der Arterienwand.

In einem Falle, wo Schnitte durch einen Pulmonalarterienthrombus erhalten wurden, waren die Lungenkapillaren des zugehörigen Gebietes sowie auch die Lungenvenen stark gefüllt; es fanden sich hier auch bedeutende Ansammlungen von Leukozyten in den Gefäßen. Auch in andern Fällen fanden sich ähnliche Befunde. Es handelt sich hier wohl um eine Rückstauung des Blutes.

Das Blut, das während der Autopsie entnommen wurde, zeigte bald beschleunigte Gerinnung, in andern Fällen war die Gerinnung verlangsamt. Auch Bogg's¹⁾ fand keine Regelmäßigkeit nach intravenöser Injektion von artfremdem Serum. Doch lassen sich gewisse Regeln aufstellen, falls man eine größere Anzahl von Versuchen anstellt. In denjenigen Fällen, in denen das Blut in dem Herzen während der Agonie gerann, gerann auch das Blut *in vitro* sehr schnell, falls es frühzeitig entnommen wurde. In Fällen, in denen intrakardial Gerinnsel sich nicht bildeten, war häufig, aber nicht immer, eine verlangsamte Blutgerinnung *in vitro* zu beobachten.

Bei weiteren Versuchen dürfte sich vielleicht auch die Zeit, welche zwischen dem Tode und der Blutentnahme verfloß, als ein wichtiger Faktor erweisen, der mitentscheidet, ob man das Blut in der positiven oder negativen Phase vorfindet. Wie *in vitro*, so gerinnt auch in dem Körper das Blut nach einer gewissen Zeit, auch in solchen Fällen, in denen der Tod später als 9 Minuten nach Beendigung der Seruminjektion stattgefunden hat. Findet die Autopsie z. B. erst eine Stunde nach dem Tode statt, so findet man jetzt auch in dem Herzen Gerinnsel auch in solchen Fällen, in denen während der Agonie keine Gerinnsel sich gebildet hatten.

Als eine Folge der Injektion von Hundesserum findet in dem Körper Hämolyse statt. Falls man das Blut nach der Entnahme sofort zentrifugiert, findet man das Serum mehr oder weniger rot gefärbt. Auch durch Zählung der Erythrozyten vor und nach der Seruminjektion läßt sich diese Hämolyse feststellen. So sank z. B. in einem Versuche die Zahl der roten Blutkörperchen von 6 220 000 auf

¹⁾ T. R. Bogg's, Über Beeinflussung der Gerinnungszeit des Blutes im lebenden Organismus.
D. Arch. f. klin. Med. Bd. 79, 1904.

5 020 000; dies entspricht etwa einem Verlust von 19% der Erythrozyten im Verlaufe von ungefähr 6 Minuten. Das Kaninchen wog 1900 g. 10 ccm Serum wurden intravenös injiziert; das Tier starb 19 Minuten nach der Injektion; die erste Blutentnahme zum Zwecke der Erythrozytentzählung fand direkt vor der Injektion, die zweite Blutentnahme $5\frac{1}{2}$ Minuten später statt.

Injektion einer Kombination von defibriniertem Kaninchenblut und Hundeserum. In 11 Versuchen wurde an Stelle von Hundeserum eine Kombination von defibriniertem Kaninchenblut und Hundeserum injiziert. Defibriniertes Kaninchenblut allein wird anstandslos vertragen, falls es eine Stunde nach der Blutentnahme oder später injiziert wird. In Kombination mit Hundeserum wirkt es tödlich. In unsren Versuchen wurde gewöhnlich zuerst das Kaninchenblut und sodann das Hundeserum injiziert. Bemerkenswert ist in diesen Versuchen, daß in zwei Fällen die Tiere schon nach Injektion von 5 und 6 ccm Hundeserum in wenigen Minuten starben; der Injektion des Hundeserums war in diesen Fällen eine Injektion von 7 bzw. 8 ccm Kaninchenblut vorangegangen. Möglicherweise macht die Einspritzung von Kaninchenblut das Hundeserum ein wenig gefährlicher für das Kaninchen; doch ist der Unterschied jedenfalls nur sehr gering. Ferner ist auffallend, daß in drei Versuchen, in denen die Tiere 4 Minuten nach der (getrennten) Injektion von Kaninchenblut und Hundeserum starben, sich keine Thromben im Herzen fanden, was der Fall gewesen wäre, falls zu dieser Zeit der Tod nach Injektion von Hundeserum allein stattgefunden hätte. Zugleich zeigen diese letztgenannten Versuche, wie variabel die Gerinnungszeit des Blutes unter diesen Bedingungen ist.

In den drei Experimenten erfolgte jedesmal der Tod 4 Minuten nach Beendigung der Injektion, die Gerinnungszeit des sofort nach dem Tode entnommenen Blutes war in dem zweiten Versuch 10 Minuten, in dem dritten 4 Minuten und in dem ersten Versuch hatte nach 30 Minuten nur eine teilweise Gerinnung stattgefunden.

Es ist wahrscheinlich, daß, falls eine Kombination von defibriniertem Kaninchenblut und von Hundeserum injiziert wird, die in dem Kaninchenblut nach dem Defibrinieren enthaltenen gerinnungbeschleunigenden Substanzen nicht ohne Bedeutung bleiben und in Verbindung mit dem Hundeserum den Tod herbeiführen.

2. Injektion von Hirudin und Hundeserum.

In der ersten Versuchsreihe, in der wir unverändertes Hundeserum injizierten, spielten Thromben im Herzen und in den Lungen eine bedeutende Rolle. Unter den Symptomen war die Dyspnoe, an die sich Konvulsionen anschlossen, am meisten in die Augen fallend. Diese Tatsachen legten den Gedanken nahe, daß intravaskuläre Gerinnungsvorgänge für die letale Wirkung des Hundeserums verantwortlich sein möchten. Es war nun möglich, diese Annahme einer experimentellen Prüfung zu unterziehen. Eingriffe, die die intravaskuläre Gerinnung aufheben oder vermindern, sollten dann die letale Dose des Hundeserums herabsetzen.

Intravenöse Injektion von Hirudin erschwert die Blutgerinnung. Falls also intravaskuläre Gerinnungsvorgänge allein oder in Verbindung mit andern Faktoren bei der letalen Wirkung des Hundeserums in Betracht kommen, sollte eine Kombination von Hirudin und Blutserum die letale Dose des Hundeserums erhöhen. Hierbei ist nun zu berücksichtigen, daß die gerinnungshemmende Kraft des Hirudins beschränkt ist. Hirudin wirkt sehr kräftig gegen Thrombin, es hemmt daher die gerinnungsbeschleunigende Wirkung des Hundeserums gegenüber dem Blutkörperchenfreien Plasma sehr wesentlich; Hirudin wirkt aber viel schwächer hemmend gegenüber den in den Geweben vorhandenen Gewebskoagulinen und ebenso gegenüber gewissen Bestandteilen der Erythrozyten, die bei der durch Hundeserum bewirkten Hämolyse frei werden.

Daher kann Hirudin, falls innerhalb der Gefäße eine stärkere Hämolyse durch Injektion von Blutserum des Hundes bewirkt wird, nur bis zu einem gewissen beschränkten Grade lebensrettend wirken.

Es wurden nun 26 Kaninchen mit Hirudin und Hundeserum injiziert. Die angewandten Hirudinmengen schwankten in den einzelnen Versuchen zwischen 80 und 20 mg; in der Mehrzahl der Versuche wurden 50 mg injiziert, einmal sogar nur 15 mg. Dabei kommen nun noch Variationen in der Stärke des Hirudins hinzu. Manchmal wurde zuerst das Hirudin in etwa 0,85 prozentigem NaCl gelöst, intravenös injiziert und $\frac{1}{2}$ bis 2 Minuten später das Serum, in andern Fällen wurde das Hirudin oder ein größerer Teil desselben mit dem Serum gemischt eingespritzt; in einigen Fällen wurden nach Injektion dieser Mischung nach Ablauf einiger Minuten weitere, gewöhnlich kleinere Mengen Hirudin injiziert.

Das Resultat war nun, daß in der Mehrzahl der Versuche das Hirudin die letale Dose des Hundeserums erhöhte, und zwar schwankte in den einzelnen Versuchen die Erhöhung der Dose zwischen 50 und 100 %.

Wurde die Dose des Serums noch weiter erhöht, so blieben die Tiere nicht am Leben, aber sie starben weniger schnell als die Kontrolltiere. Auch die Symptome waren ähnlich, erst Beschleunigung der Atmung und vor dem Tode Konvulsionen. Doch konnten auch die Konvulsionen fehlen. Bei der Autopsie fanden sich nach einer vorhergehenden Hirudininjektion niemals Gerinnsel im Herzen oder in den großen Venen; wohl aber fanden sich Thromben in den Lungengefäßen in einer Anzahl der Fälle. Auch hier schienen diese erst agonal zu entstehen oder jedenfalls agonal sich auszudehnen, wie wir dies oben beschrieben haben bei Tieren, die Hundeserum ohne Hirudin erhalten hatten. Ödem der Lunge fand sich häufig in geringerem oder stärkerem Grade; doch konnte es auch fehlen. Bei der mikroskopischen Untersuchung fanden sich wieder Blutungen um die Pulmonalarterie. Das nach dem Tod entnommene Blut blieb längere oder kürzere Zeit ungeronnen.

Es wurden nun hier wiederum einige Erythrozytenzählungen vor und nach der Einspritzung des Hundeserums vorgenommen, um den Verlauf der intravaskulären Hämolyse zu ermitteln.

Es ergab sich in einem Versuch, daß vor der Injektion von 10 ccm Serum plus 50 mg Hirudin die Anzahl der Erythrozyten 6 750 000 betrug, 20 Minuten nach der Injektion war dieselbe auf 4 380 000 (Hämoglobin im Urin), $3\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion auf 3 860 000, $5\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion auf 3 576 000 gesunken.

Dieser Versuch zeigt, daß kurz nach der Injektion eine rasche, dann stundenlang eine langsamere Zerstörung der Erythrozyten stattfindet. Das Tier war während dieser Zeit schwach, aber blieb am Leben.

In einem andern Versuche hingegen starb das Tier allmählich unter zunehmender Schwäche.

In diesem Falle wurden 16 ccm Serum + 30 mg Hirudin injiziert. Schon vor der Injektion war die Zahl der Erythrozyten sehr niedrig, nämlich 3 760 000. Das Tier war also anämisch. 11 Minuten nach der Injektion war die Zahl auf 2 200 000 und 2 Stunden später auf 1 900 000 gesunken. Also auch hier eine ähnliche Kurve. Das Tier starb unter zunehmender Schwäche nach 4 Stunden.

Es mögen einige Beispiele für die Wirkung des Hirudins angeführt werden.

Serum 16 ohne Hirudin zeigte die folgende Wirkung: 7 ccm töteten in 9 Minuten, 7,2 ccm in 6 Minuten, 7,8 ccm in 2 Minuten, 8,6 ccm in $3\frac{1}{2}$ Minuten.

Es wurden nun einem Kaninchen 80 mg Hirudin, gelöst in 7 ccm 0,85 prozentigem NaCl, injiziert. Eine halbe Minute später wurden 12,5 ccm Serum injiziert. Das Tier blieb am Leben. In ein anderes Tier wurden nach vorausgehender Injektion der gleichen Dose von Hirudin 10,5 ccm Serum eingespritzt. Hier blieb das Tier nicht am Leben, sondern starb nach 19 Minuten, also unter starker Verzögerung. Das Tier zeigte bald nach der Injektion Schwäche und nach $2\frac{1}{2}$ Minuten schnelle Respiration. Darauf schien es sich zu erholen. Aber etwa 18 Minuten nach der Injektion traten plötzlich Konvulsionen auf, und dann starb das Kaninchen. In den Lungen fanden sich geringes Ödem sowie Thromben. Im Herzen waren Koagula nicht vorhanden. Das nach dem Tode entnommene Blut blieb *in vitro* lange flüssig.

In einem mit einem andern Serum angestellten Versuch starb das Kontrolltier nach Injektion von 8,3 ccm Serum in 2 Minuten. Ein Tier hingegen, das 15 ccm + 30 mg (sehr wirksamen) Hirudins erhalten hatte, blieb am Leben.

Ferner sei ein Versuch angeführt, in dem Injektion von Hirudin ohne Wirkung blieb.

Kontrolltiere starben nach Injektion von 10 ccm in 4 bis 5 Minuten. Kaninchen, die vor der Seruminjektion 30 bis 45 mg Hirudin erhielten, starben nach der Injektion von 10,5 bis 11,3 ccm Serum ungefähr wie die Kontrolltiere nach $3\frac{1}{2}$ bis 5 Minuten, ebenfalls unter Konvulsionen.

In diesen drei Versuchen fand sich einmal kein Lungenödem, einmal nur geringfügiges und einmal ausgeprägtes Ödem. Thromben fanden sich in den Lungen, aber nicht in dem Herzen. In einem Falle, in dem die Autopsie bald nach Beginn der agonalen Konvulsionen gemacht wurde, ließ sich feststellen, daß die Thromben erst während der Agonie sich bildeten.

Im allgemeinen zeigte sich das Hirudin wirksam in den Fällen, in denen eine genügende Menge nicht zu stark abgeschwächten Hirudins injiziert wurde. Es waren besonders einige Versuche, in denen geringe Mengen von Hirudin gleichzeitig mit dem Serum anstatt vor dem Serum eingespritzt wurden, in denen Hirudin die letale Dose nicht erhöhte. Daß nun Hirudin eine solche distinkte Wirkung ausübt, beweist, daß Gerinnungsvorgänge im Kreislauf für den Tod nach Injektion von Hundeserum verantwortlich sind. Wahrscheinlich beruht aber die primäre

Schwäche und Respirationsbeschleunigung nach Injektion des Serums (die innerhalb der ersten 3 Minuten ablaufenden Symptome im Falle nicht letaler Wirkung) auf zentraler Wirkung des Serums, etwa auf Beeinflussung des vasomotorischen und Respirationszentrums. Es bleibt nun noch zu erklären, daß Hirudin die letale Wirkung des Serums nicht ganz aufhebt, sondern nur vermindert. Das beruht in erster Linie wohl darauf, daß, falls starke Hämolyse stattfindet, Hirudin, das ja nur für eine beschränkte Zeit im Blutgefäßsystem wirksam ist, nicht die Bildung kleiner Koagula verhindern kann, die sich dann in den Lungengefäßen ansammeln und diese verstopfen. Es findet daher nur eine gewisse Verzögerung des Todes statt. Wir finden daher später Zeichen von in den Lungen sich ausdehnenden Thromben. Doch sind nicht die großen, mit dem Auge sichtbaren Thromben in der Lunge die direkte Todesursache, da diese sich ja wahrscheinlich erst nach Beginn der agonalen Symptome bilden, sondern es handelt sich offenbar primär um kleine Koagula, und die größeren Koagula stellen nur eine Ausdehnung der kleineren dar. Auch die Herzkoagula spielen bei der Serumwirkung keine Rolle, sie sind agonal; in keinem Falle fanden sich Herzthromben nach Injektion von Hirudin, auch in den Versuchen, in welchen eine Erhöhung der letalen Dose durch Hirudin nicht bewirkt worden war. Wir können aber auch nicht ausschließen, daß in einigen Fällen der Tod nach der Injektion von Hirudin und Serum durch Lungenödem, in andern Fällen durch starke Hämolyse in schwachen Tieren und durch direkte oder indirekte zentrale Wirkung auf gewisse Teile der Medulla oblongata und des Rückenmarks zustande kam. Jedenfalls beweisen diese Versuche, daß die primäre Todesursache nach intravenöser Injektion genügender Mengen von Hundeserum in Kaninchen auf intravitalen Gerinnungen und Verstopfung vieler kleiner Lungengefäße beruht.

Wir berücksichtigen aber, wie ausdrücklich bemerkt werden soll, in diesen Versuchen nur die Fälle, in denen der Tod innerhalb der ersten Stunden nach der Injektion und nicht erst später eintrat. Über die Ursachen des später eintretenden Todes haben wir keine Untersuchungen angestellt.

3. Einfluß der Wärme auf die letale Dose des Hundeserums.

Zur weiteren Analyse der toxischen Wirkung des Hundeserums war es von Interesse, den Einfluß der Erwärmung festzustellen.

Es ergab sich, daß Erwärmen auf 56° während einer halben Stunde die Giftigkeit des Serums aufhebt.

So wurde z. B. die Injektion von 16 ccm ohne Symptome ertragen. Blutserum, das 23 Stunden im Thermostat (38°) gehalten wurde, hatte beträchtlich an Toxizität verloren. Nach Injektion von 10,7 ccm und 16,1 ccm traten nur geringe Reaktionen auf, und die Tiere erholten sich.

Auch Serum, das 4½ Stunden bei 38° im Thermostat gestanden hatte, hatte an Kraft verloren. Während 12 ccm Kontrollserum (8 Tage alt, daher wohl ein wenig getrübt, obwohl im Eisschrank gehalten) in 7 Minuten töteten, erholt sich ein Kaninchen nach Injektion von 23 ccm desselben Serums, nachdem es 4½ Stunden bei 38° gehalten worden war. Doch stirbt ein zweites Tier nach Injektion von 23,6 ccm eines solchen Serums; hier fanden sich Koagula im rechten Herzen.

Schon ein Aufenthalt von $1\frac{1}{4}$ Stunden bei 38° im Thermostat schwächt das Serum in nachweisbarer Weise.

Während 9,2 ccm Kontrollserum ein Kaninchen in 6 Minuten und 6 ccm in $2\frac{1}{2}$ Stunden töteten, töteten nach $1\frac{1}{4}$ stündiger Erwärmung auf 38° 9,2 ccm in 15 Minuten, 16,6 ccm in 2 Minuten (Koagulum im rechten Herzen), 27,7 ccm direkt nach Abschluß der Injektion (Koagulum im rechten Herzen und in den Venen). Nach Injektion von 6,3 ccm erwärmten Serums erholte sich ein Tier.

Serum, das $1\frac{3}{4}$ Stunden bei Zimmertemperatur stand, war nicht merklich geschwächt.

Ein solches Serum tötete in einer Dose von 8,5 ccm sofort mit Koagulis in Herzen und Venen, während Kontrollserum in einer Dose von 8,3 ccm in 2 Minuten und in einer Dose von 9 ccm in 5 Minuten tötete. Nach Injektion von 6 ccm erholte sich ein Tier.

Wir sehen also, daß Erwärmung auf 56° während einer halben Stunde das Serum unschädlich macht, daß eine Erwärmung auf 38° während einer Periode von 2 bis 23 Stunden das Serum nachweisbar schwächt, wobei längere Erwärmung wirksamer ist; daß aber etwa zweistündiges Stehen bei Zimmertemperatur eine merkliche Abnahme in der letalen Wirkung des Serums nicht bewirkt.

4. Adsorptionsversuche.

49 Kaninchen wurden mit Hundeserum injiziert, das mit fein zerteilten Organen des Hundes oder des Kaninchens während 1 oder 2 Stunden im Schüttelapparat vermischt worden war. Die Proportionen, in denen Serum und Organe gemischt wurden, waren verschieden in verschiedenen Versuchen. Es wurden in der Mehrzahl der Versuche 23 oder 13 g des fein zerteilten Organes mit 100 ccm Serum gemischt. Vor dem Gebrauch wurden die Suspensionen durch mehrere Lagen von engmaschigem Tuch filtriert und dann mehrere Male zentrifugiert. Die benutzten Organe waren: Kaninchen- und Hundehirn, Kaninchenniere und Hunde- und Kaninchenleber. Es ergab sich nun, daß durch Adsorption ein Teil der schädlichen Substanzen aus dem Serum entfernt werden. Die letale Dosis wird erhöht, und zwar in den verschiedenen Versuchen verschieden stark. Ein durchgreifender Unterschied in der Wirkung der verschiedenen Organe bestand nicht. Ein Unterschied in der Wirkung des so behandelten Serums von dem gewöhnlichen Serum lag darin, daß in einer Anzahl von Versuchen, in denen die Tiere innerhalb von 6 Minuten nach beendigter Injektion starben, sich im Herzen keine Koagula fanden. Führt Injektion von unbehandeltem Serum in dieser Zeit zum Tode, so finden sich regelmäßig Herzkoagula. Doch waren in einigen Fällen, in denen das Tier in wenigen Minuten starb, Herzkoagula, trotz vorheriger Behandlung des Serums mit Organen, vorhanden. Diese Verschiedenheit in dem Verhalten der beiden Sera ist entweder dadurch verursacht, daß nach Einwirkung der Organsuspension gewisse Substanzen, die aus den Geweben extrahiert werden, die Eigenschaften des Serums ändern, oder möglicherweise hängt dieses Verhalten davon ab, daß zuweilen trotz sorgfältiger Behandlung kleine Partikel von Organsuspension in dem Serum blieben und Lungenembolien verursachten.

Während, wie wir früher sahen, das Blut des Kaninchens nach Injektion einer Dose von Hundeserum, die den Tod innerhalb weniger Minuten herbeiführt, gewöhnlich sehr schnell *in vitro* gerinnt, falls es nicht zu spät entnommen wird, gerinnt das Blut, das Kaninchen entnommen wird, die innerhalb weniger Minuten nach Injektion von mit Organsuspension behandeltem Serum ohne Bildung von Koagula im Herzen starben, gewöhnlich langsam; es begann aber schnell in Fällen, in denen sich nach Injektion solchen Serums intrakardiale Koagula vorfanden. In Tieren, die später starben, war meist die Blutgerinnung *in vitro* verzögert.

Die Symptome, die sich nach der Injektion dieses Serums entwickelten, waren ähnlich wie nach Injektion gewöhnlichen Hundeserums; Schwäche und Konvulsionen waren häufig vor dem Tode vorhanden. Bei der Autopsie wurden zuweilen makroskopisch Gerinnsel in Lungengefäßen gefunden.

In einem Versuch, in dem das Kontrollserum in einer Dose von 8,6 ccm das Kaninchen in 1½ Minuten tötete, blieb ein Tier nach Injektion von 9½ ccm mit Kaninchenhirn behandelten Serums am Leben; ebenso nach Injektion von 10 ccm mit Hundehirn oder von 12 ccm mit Kanincheniere behandelten Serums.

Aber ein Tier, das eine Injektion von 15 ccm mit Hundehirn behandelten Serums erhielt, starb nach 3½ Minuten, ohne daß sich Herzthromben fanden.

In einem andern Fall, in dem 10 ccm unbehandelten Serums in 5 Minuten töteten, blieb ein Tier, das mit 13 ccm mit Hundehirn behandelten Serums injiziert wurde, am Leben; ein anderes Kaninchen starb nach Injektion von 18 ccm mit Kaninchenhirn behandelten Serums erst nach 42 Minuten; 18 ccm mit Kaninchenleber behandelten Serums wurden gut ertragen, 19 ccm mit Hundeleber behandelten Serums töteten erst in 1 bis 2 Stunden.

5. Injektion von Hundeserum in immunisierte Kaninchen.

Durch wiederholte Einspritzung von Hundeserum in Kaninchen kann ihre Toleranz gegen intravenöse Injektion von Hundeserum sehr erhöht werden. In eine Anzahl Kaninchen wurde alle 3 bis 7 Tage Hundeserum intravenös injiziert in anfangs sehr langsam wachsender Dose; später wurde jedesmal eine um 3 ccm größere Dose injiziert. Nach etwas mehr als 2 Monaten konnten 40 ccm Hundeserum ohne schädliche Folgen injiziert werden; also etwa die sechs- bis siebenfach letale Dose. Auf der andern Seite können natürlich (wieder eine von uns vor etwa 4 bis 5 Jahren beobachtete) auch anaphylaktische Erscheinungen bei Kaninchen, die mit Hundeserum injiziert werden, beobachtet werden.

Die Immunisierung beruht aller Wahrscheinlichkeit darauf, daß in immunisierten Kaninchen eine Auflösung der Erythrozyten durch das Hundeserum nicht stattfindet.

II. Versuche mit Rinderserum.

1. Injektion von Rinderserum ohne weitere Zusätze.

In der Beschreibung dieser Versuche können wir uns viel kürzer fassen, da die Technik und die Ergebnisse in vieler Hinsicht den beim Hundeserum geschilderten gleichen. Doch bestehen einige charakteristische Unterschiede, und es wird im

wesentlichen darauf ankommen, diese hervorzuheben. Die Symptome nach Injektion von Rinderserum sind im wesentlichen dieselben wie nach Injektion von Hundeserum: Schwäche, Atmungsbeschleunigung bald nach der Einspritzung; falls der Tod in wenigen Minuten eintritt, schließen sich Unruhe und Konvulsionen an; falls der Tod erst später eintritt, erholt sich das Tier im Anfang oder bleibt schwächer und später wird die Schwäche sehr ausgesprochen, und das Tier stirbt unter Konvulsionen. Doch können diese auch ausbleiben. Die Respiration hört vor der Herzaktion auf. Nach dem Tode finden sich Erweiterung des rechten Herzens und häufig Koagula in den Lungengefäßen; aber auch hier entstehen dieselben (die Koagula) wahrscheinlich agonal, ebenso wie beim Hundeserum; die Ergebnisse bei frühzeitiger Autopsie weisen darauf hin. Ein merklicher Unterschied zwischen Rinder- und Hundeserum besteht darin, daß das erstere keine intrakardiale Gerinnungen verursacht, auch wenn der Tod innerhalb der ersten Minuten nach der Injektion eintritt. Ebensowenig finden sich Gerinnung in den großen Venen. Nur einmal fand sich ein Serum, das sich hierin ähnlich wie Hundeserum verhielt; aber hier lag offenbar eine Anormalität vor. Entsprechend fanden wir auch häufiger eine Verzögerung der Blutgerinnung *in vitro* als bei Hundeserum, auch in den Fällen, in denen das Tier innerhalb der ersten Minuten starb. Doch wurde auch in einem Falle, in dem das Blut sehr früh in der Agonie entnommen wurde, beobachtet, daß die Gerinnung beschleunigt war. Zählung der Erythrozyten vor und nach der Injektion ergibt auch hier eine merkliche Verminderung der Blutkörperchen. Mikroskopisch zeigten die Lungen nicht selten Hämorrhagien um einige Äste der Pulmonalarterie; ebenso wie auch zuweilen etwas Ödem, das in einigen Fällen auch makroskopisch feststellbar war.

Die letale Dose des Rinderserums ist nicht sehr verschieden von der des Hundeserums, doch ist das erstere wohl um ein geringfügiges aktiver. Auch ist die Kurve, welche die Zeit bis zum eintretenden Tod als Funktion der Menge des eingespritzten Serums darstellt, ähnlich wie beim Hundeserum. Rinderserum, das 4 und 6 Tage im Eisschrank gehalten wurde, hatte nicht wesentlich an Wirksamkeit verloren; doch war in einem Falle nach 8 Tagen das Serum merklich schwächer geworden.

Im ganzen wurden 26 Kaninchen mit nicht vorbehandeltem Rinderserum ohne weiteren Zusatz injiziert.

Einige Beispiele für die letale Dose seien angeführt:

In einem Falle töteten 7 ccm in 2 Minuten, 10 ccm in 1 Minute. Mit einem andern Serum nach Injektion von 4,9 ccm: das Tier bleibt am Leben. 7½ ccm tödten in 6 Minuten. 10 ccm in 2 Minuten. In einem andern Versuch: 5 ccm töten in 12 Minuten, 6 ccm in 4 Minuten. In einem andern Falle tödten 5 ccm in 8½ Minuten, 8 ccm in 4 Minuten.

Also Rinderserum unterscheidet sich von Hundeserum in seiner Wirkung auf Kaninchen 1. dadurch, daß die letale Dose für das erstere ein wenig geringer ist, 2. daß es in der Regel im Gegensatz zum Hundeserum keine intrakardialen Gerinnungen bewirkt, und 3., daß wohl im Zusammenhang mit dem zweiten Punkt nach der Injektion die Gerinnung des Kaninchenblutes *in vitro* in einer größeren

Anzahl von Fällen verlangsamt ist. In allen andern wesentlichen Punkten gleichen sich Rinder- und Hundeserum in ihrer Wirkung auf Kaninchen; und das weist darauf hin, daß der Tod in beiden Fällen nicht in identischer, aber doch in verwandter Weise herbeigeführt wird.

2. Injektion von Hirudin und Rinderserum.

Alles, was über die Dose und Art der Einspritzung bei dem Hundeserum gesagt wurde, gilt auch für das Rinderserum.

Die Ergebnisse weichen aber im Falle des Rinderserums nicht unwesentlich von den mit Hundeserum erhaltenen ab. Während, wie wir sahen, im Falle des letzteren Hirudin eine deutliche Wirkung ausübt, indem es die letale Dose erhöht oder die Zeit bis zum Eintritt des Todes verlängert, ist Hirudin in Kombination mit Rinderserum wirkungslos; kleine Schwankungen, die beobachtet werden, liegen innerhalb der Grenzen der natürlichen Schwankungen nach Injektion von Serum ohne Zusatz. Auch mit Hirudin trat der Tod gewöhnlich nach Injektion von 5 bis 7 ccm Rinderserum pro Kilogramm Tier ein. Nur in einem Falle hatte Hirudin eine günstige Wirkung, und zwar in dem Falle, in dem das Rinderserum, entgegen dem gewöhnlichen Verhalten, intrakardiale Gerinnung hervorrief. Während in diesem Falle die Kontrolltiere nach Injektion von 7 und 9 ccm Rinderserum in wenigen Minuten starben, starb ein Tier nach Zusatz von Hirudin und Injektion von 7 ccm Serum erst nach einer Stunde, und ein anderes Tier erholte sich nach Injektion von 11 ccm. Aber in diesem Falle haben wir es, wie erwähnt, mit einem ungewöhnlichen Serum zu tun.

Ebenso wie die Tatsache, daß nach Injektion von Rinderserum intrakardiale Gerinnungen ausbleiben, weist auch dieser weitere Befund die Wirkung des Hirudins betreffend darauf hin, daß im Gegensatz zum Hundeserum intravaskuläre Blutgerinnungen im Falle des Rinderserums für die letale Wirkung des Serums nicht von wesentlicher Bedeutung sind. Trotzdem muß nach Injektion von Rinderserum die direkte Todesursache sehr ähnlich sein der nach Injektion von Hundeserum beobachteten. Darauf weist die Ähnlichkeit der Symptome und Autopsiebefunde in beiden Fällen hin.

Die Untersuchung der Wirkung der beiden Sera in vitro wird es uns ermöglichen, eine diesen Postulaten entsprechende Erklärung der Todesart im Falle der beiden Sera zu geben.

Die Symptome wurden durch die Beifügung oder vorherige Injektion von Hirudin nicht wesentlich verändert, ebensowenig die makroskopischen oder mikroskopischen Ergebnisse der Autopsie. In keinem Falle fanden sich Koagula im Herzen und nur in einem Falle sichtbare Thromben in den Lungengefäßen. In 8 Tieren fand sich kein Lungenödem, in 7 Fällen war solches in geringerem oder stärkerem Maße vorhanden. Auch die peripheriellen Hämorrhagien waren vorhanden.

Entsprechend den oft beträchtlichen Dosen von Hirudin blieb das Blut bei der Entnahme nach dem Tode des Tieres gewöhnlich eine Zeitlang flüssig; doch fanden sich hier beträchtliche Variationen; in einem Falle z. B. begann die Gerinnung nach 40 Minuten, in einem andern Falle nach 15 oder sogar nach 7 Minuten. Hierbei ist aber zu berücksichtigen, daß das Blut meist ohne Kanüle aufgefangen wurde, so daß also die Gewebskoaguline einwirken konnten, ferner, daß in den Gefäßen Hämolyse auftrat, welche die Gerinnung beschleunigte.

19 Kaninchen wurde eine Kombination von Hirudin und Rinderserum injiziert.

3. Einfluß des Erwärmens auf das Rinderserum.

In 5 Kaninchen wurde Rinderserum injiziert, das während einer halben Stunde auf 56° erwärmt worden war. Dieses Serum wurde in großen Dosen ohne schädliche Wirkung vertragen. Also die den Tod herbeiführende Substanz wird auch hier ebenso wie beim Hundeserum durch ein halbstündiges Erwärmen auf 56° zerstört.

7 Kaninchen wurden intravenös mit Rinderserum injiziert, das 2½ bis 4 Stunden bei 38° im Thermostat gehalten worden war. Dieses Serum war gegenüber dem im Eisschrank gehaltenen nicht merklich abgeschwächt. Letzteres tötete z. B. in einem Versuch in einer Dose von 8 ccm in 4 Minuten, in einer Dose von 5 ccm in 8½ Minuten, während das auf 38° erwärmte Serum in einer Dose von 10 ccm in 3 Minuten und in einer Dose von 6 ccm in 5 Minuten tötete.

Wo in diesen Fällen größere Mengen Serum injiziert wurden, starb das Tier direkt nach der Injektion mit Konvulsionen; in einem dieser Fälle war das Ergebnis der Autopsie negativ, in dem andern fand sich Lungenödem.

Trat der Tod erst nach längerer Zeit ein, so stellten sich 1 Minute nach der Injektion schnellere Respiration und Schwäche ein; nach 8 Minuten erholte sich das Tier, um nach 22 Minuten wieder sehr schwach zu werden und nach 24 Minuten zu sterben.

4. Injektion von Rinderserum, das vorher mit Organemulsionen behandelt worden war.

In bezug auf die Technik der Versuche gilt auch hier alles, was früher im Falle des Hundeserums gesagt wurde, nur daß in diesen Versuchen Kaninchenhirn, Rinderhirn und Rinderniere benutzt wurden. Falls eine genügende Menge Kaninchenhirn (7 bis 15 g auf 40 ccm Serum) benutzt wurde, wurde die letale Dose des Rinderserums merklich, nämlich etwa auf 16 bis 20 ccm, erhöht; wurde aber eine kleinere Menge Kaninchenhirn (3,5 g oder weniger auf 40 ccm Serum benutzt,) so war eine merkliche Adsorptionswirkung nicht vorhanden.

In diesen Versuchen wirkte nun das Rinderhirn deutlich schwächer adsorbierend als das Kaninchenhirn, nach Injektion von 8 bis 17 ccm von mit Rinderhirn behandeltem Serum starben die Kaninchen in 1 bis 3 Minuten. Wie im Falle des Hundeserums hatte die Injektion solchen (adsorbierten) Serums zur Folge, daß

das Blut des injizierten Kaninchens in der großen Mehrzahl der Versuche nach der Entnahme langsamer koagulierte als in Versuchen mit unbehandeltem Rinderserum. Über die möglichen Ursachen für diesen Befund gilt das beim Hundeserum Gesagte. Diese gerinnungshemmende Wirkung war auch in solchen Fällen vorhanden, in denen das Tier am Leben blieb. In einem Falle jedoch war eine Gerinnungsmöglichkeit *in vitro* nicht vorhanden.

Merkwürdigerweise fanden sich in einigen Fällen, in denen Rinderserum nach Vorbehandlung mit Rinderhirn den Tod herbeiführte, Blutkoagula im rechten Herzen. Wie weit hierfür die Behandlung mit Rinderhirn verantwortlich zu machen ist, müßte durch weitere Versuche entschieden werden. Im übrigen waren Symptome und Autopsiebefunde nach Injektion solchen Serums dieselben wie nach Injektion von nicht vorbehandeltem Rinderserum.

18 Kaninchen wurden mit solchem Serum injiziert.

III. Versuche *in vitro*.

Um weitere Aufschlüsse über die Wirkungsart des Hunde- und Rinderserums auf Kaninchenblut zu erhalten, war es nötig, die Einwirkung der Sera auf das Kaninchenblut *in vitro* zu prüfen und mit ihrer Wirkung nach intravenöser Injektion in das lebende Tier zu vergleichen.

Es war nun nicht möglich, die Verhältnisse *in vitro* denen *in vivo* ganz entsprechend zu gestalten. Dazu wäre es nötig gewesen, unverändertes Blut *in vitro* zu benutzen. Das ist natürlich nicht möglich. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß nach Injektion von artfremdem Serum *in vivo* Reaktionen stattfinden, die sich in dem Auftreten der sogenannten negativen Gerinnungsphase¹⁾ äußern und die natürlich bei Versuchen *in vitro* wegfallen. Am besten schien es zu sein, die Gerinnung des Blutes durch ultravenöse Injektion einer geeigneten Quantität von Hirudin in das Kaninchen zu hemmen und dann dieses Blut durch eine Kanüle zu entziehen und in seinem Verhalten gegenüber verschiedenen Quantitäten von Hunde- und Rinderserum zu prüfen. Hierbei war es nötig, einen Überschuß von Hirudin, der das Blut völlig ungerinnbar gemacht haben würde, zu vermeiden. Dieses Verfahren erlaubte uns nicht nur, den Einfluß des Serums auf Hämolysen und Agglutination der Erythrozyten, sondern auch auf die Gerinnung des Plasmas zu prüfen. Sodann wurde auch gesondert an Stelle von Hirudinblut defibriniertes Blut des Kaninchens benutzt. Jeweilen wurden Parallelversuche mit Hunde- und Rinderserum angestellt, auch wurde der Einfluß der Wärme auf das Hunde- und Rinderserum *in vitro* untersucht.

Es wurden 5 solcher Versuchsreihen *in vitro* angestellt. Zu 1 ccm Kaninchenblut + Hirudin oder zu 1 ccm defibrinierten Kaninchenblutes wurden absteigende Mengen Serum (von 1 ccm bis 0,1 ccm) zugesetzt und die folgende Hämolysen, Agglutination und Koagulation beobachtet.

¹⁾ Vgl. über die Vorgänge bei der Blutgerinnung die zusammenhängende Darstellung von Leo Loeb im Biochemischen Zentralblatt Bd. VI, 1907.

Die Ergebnisse waren wie folgt: Rinderserum agglutiniert die Erythrozyten des Kaninchens viel stärker als Hundeserum. Die Flocken der agglutinierten Blutkörperchen werden bald sehr umfangreich und sinken zu Boden. Um diese am Boden liegende Masse agglutinierter Erythrozyten beginnt die Koagulation des Plasmas; von hier breitet sich die Koagulation in die überstehende Flüssigkeit aus. Die Hämolyse kann bei Zufügen von Rinderserum ebenso stark sein wie mit Hundeserum; die Koagulation kann sogar stärker sein. Mit abnehmenden Mengen von Rinderserum nimmt die Hämolyse und Agglutination ab; bis zu einer gewissen optimalen Serummenge kann zuweilen die Blutkoagulation sogar zunehmen, um dann bei weiterer Abnahme des Rinderserums wieder geringer zu werden. Ein halbstündiges Erwärmen des Serums auf 56° vermindert die Agglutination außerordentlich, ohne sie aber vollständig aufzuheben. Ein solches Rinderserum verursacht weniger Agglutination als ein normales oder auf 56° erwärmtes Hundeserum. Die Hämolyse und Blutkoagulation wird durch Zusatz von auf 56° erwärmtem Rinderserum nicht hervorgerufen (bzw. beschleunigt). 2½- bis 3-stündigiges Verweilen des Serums bei 38° schwächt die agglutinierende und hämolytische Kraft des Rinderserums in geringem Maße; doch bleibt auch unter solchen Umständen die Agglutination noch stark. Fügt man in vitro noch mehr Hirudin hinzu, so bleibt die Agglutination unverändert, aber die Koagulation wird aufgehoben.

Hundeserum bewirkt geringe Agglutination, die nach Erwärmen auf 56° bestehen bleibt. Dasselbe bewirkt kräftige Hämolyse und Koagulation des Plasmas. Letztere beginnt an verschiedenen Stellen entlang der Wand des Reagenzglases und erstreckt sich bald diffus über das ganze Blut. Die kleinen agglutinierten Flocken werden auch hämolsiert. Erwärmen auf 56° hebt die Hämolyse und Koagulation auf. Mehrständiges Stehen bei 38° im Thermostat schädigt die Hämolyse und Koagulation ein wenig; insbesondere die Hämolyse. Die Einwirkung suspendierter Organstücke verringert durch Adsorption die hämolytische Kraft des Hundeserums. Am günstigsten wirkte hierbei das Gehirn, und zwar erwies sich in einigen Versuchen das Kaninchenhirn stärker wirksam als Hundehirn. Die Leber war schwächer in ihrer Wirkung.

Wir sehen also, daß das Rinderserum vor allem ein agglutinierend wirkendes Serum ist, daß es viel stärker agglutinierend wirkt als das Hundserum. Letzteres ist stark hämolytisch wirksam. Diese beiden Wirkungen — die Agglutination im Falle des Rinderserums, die Hämolyse im Falle des Hundeserums — bleiben aus oder fast aus (letzteres im Falle der Agglutination durch Rinderserum) nach Erwärmen auf 56°. Ebenso wie hiernach bei intravenöser Injektion das Serum aufhört, schädlich zu sein. In bezug auf Blutgerinnung wirken in beiden Fällen vor allem die Stromata der Erythrozyten koagulierend. Im Falle des Rinderserums sind die Stromata agglutiniert und bilden bald einen großen Haufen, um den dann die Koagulation beginnt. Es handelt sich hier also infolge der agglutinativen Prozesse, die vorhergehen, um lokale Gerinnungsvorgänge, die sich erst

sekundär in die überstehende Flüssigkeit ausbreiten, welch letztere nur mehr eine relativ geringe Zahl von Stromata enthalten kann. Im Falle des Hundeserums sind die Stromata in sehr kleinen Haufen in dem ganzen Plasma suspendiert, und deshalb ist hier die Blutgerinnung diffus. Hirudin hat nur einen Einfluß auf Koagulation, aber nicht auf agglutinative Prozesse. Außer den Stromata der lädierten Erythrozyten kommen noch in dem Serum vorhandene, direkt gerinnungswirkende Substanzen in Betracht¹⁾. Diese sind nun, soweit Hirnblut in Betracht kommt, viel wirksamer im Rinderserum als im Hundeserum. Diese Substanzen, die direkt gerinnungbeschleunigend wirken, mögen zur Ausbreitung der Gerinnung im Kaninchenblut nach Zusatz von Rinderserum beitragen. Es dürfte wohl nicht notwendig sein, die ausgedehnten Versuche im einzelnen anzuführen; es sei nur bemerkt, daß zur Gerinnung des Hirudinblutes 50 bis 70 mg Hirudin intravenös in ein Kaninchen injiziert wurden.

Z u s a m m e n f a s s u n g u n d S c h l u ß f o l g e r u n g e n.

Auf Grund der hier mitgeteilten Versuche ist es nun möglich, die Wirkungsweise des Hunde -und Rinderserums nach intravenöser Injektion in das Kaninchen zu verstehen und die letale Wirkung derselben zu erklären. Alle diese auf verschiedenen Wege erhaltenen Resultate lassen sich in einheitlicher und widerspruchloser Weise zusammenfassen.

Das Hundeserum bewirkt nach der Injektion in dem Kaninchenblut beträchtliche Hämolyse. Hierdurch werden in dem ganzen Blut verteilte gerinnungserregende Substanzen frei, die an die Stromata der Erythrozyten gebunden sind. Diese letzteren agglutinieren nur in geringfügiger Weise; sie bleiben daher über das ganze Blut verteilt. Die agglutinierten Massen sind nicht groß genug, um die kleineren Lungenarterien zu verstopfen, und sie dürften daher die Lungenzirkulation nicht ernstlich erschweren. Wohl aber bewirken die Stromata die Bildung kleiner Fibringerinnsel in dem zirkulierenden Blute. Diese Gerinnsel werden in die Lungengefäßäste geführt und versperren hier die kleinen Äste der Lungenarterien und die Kapillaren und führen so den Tod unter Erstickungserscheinungen (Dyspnoe, Konvulsionen) herbei. Infolge dieser Widerstände im Lungenkreislauf findet eine Verlangsamung des Blutstroms im rechten Herzen und in den Körpervenen statt, und infolge davon ist das Blut in diesen Bezirken ein günstiges Substrat für die im Blut verteilten gerinnungsbeschleunigenden Substanzen; in der Agonie finden daher, falls sehr viel gerinnungsbeschleunigende, aus den Stromata der Erythrozyten stammende Substanzen im Blute vorhanden sind, was der Fall sein wird, wenn relativ größere Serummengen injiziert wurden, zuerst Gerinnungen im rechten Herzen, weiterhin in den großen Körpervenen und in den ausgesprochensten Fällen auch im linken Herzen statt. Ferner schreitet während der Agonie die Gerinnung von den kleinen Ästen der Lungenarterie auf größere Lungengefäße fort, und so

¹⁾ Hierüber sollen an anderer Stelle ausführlichere Mitteilungen gemacht werden.

werden während der Agonie Thromben in den großen Lymphgefäß en sichtbar. Die Erschwerung der Lungenzirkulation kann zu mehr oder weniger beträchtlichem Ödem, und in Verbindung mit dyspnöischen Atembewegungen zu peripheriellen Hämorrhagien führen. Wahrscheinlich ist die Dyspnoe allein hierzu schon genügend. Ob die verschiedene Verteilung von Kohlensäure und Sauerstoff im arteriellen und venösen Blut für die größere Leichtigkeit der Gerinnung in dem venösen Zirkulationsgebiet ebenfalls in Betracht kommt, mag dahingestellt bleiben. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die häufig in den ersten zwei Minuten nach der Injektion eintretende primäre Schwäche und Respirationsbeschleunigung auf Beeinflussung von Nervenzentren abhängt. Hiervon können sich aber die Tiere erholen.

Wird nun Hirudin in genügender Menge eingeführt, so wird hier auch die Bildung der Gerinnsel verringert. Ob das Hirudin auch erweiternd auf die kleineren Lungenarterien wirkt, muß dahingestellt bleiben. So wird durch Hirudin die Verstopfung der kleinen Pulmonalarterienäste bedeutend verringert, oder falls nur kleine Serummengen injiziert worden waren, fast ganz aufgehoben. Aber die Wirkung des Hirudins kann nur eine beschränkte sein, da das Hirudin große Mengen gerinnungbeschleunigender Substanz in vivo nicht neutralisieren kann; ferner findet in vivo bald eine Beseitigung von Hirudin statt. Doch genügen die Hirudinmengen immer, um die Koagulation in dem Herzen und in den großen Venen aufzuheben. Es ist nun auch möglich, daß, wenn größere Mengen Serum mit Hirudin injiziert werden, die Tiere infolge der beträchtlichen Hämolyse oder infolge der Wirkung des Serums auf das vasomotorische Zentrum und auf die respiratorischen Zentren sterben; doch liegen für eine solche Annahme keine direkten Beweise vor. Wird nun das Hundeserum auf 56° eine halbe Stunde erwärmt, so wird die hämolytische und Koagulation bewirkende Kraft des Serums aufgehoben, und infolgedessen wird das letztere unschädlich. Durch längeres Stehen bei 38° wird die hämolytische Kraft geschwächt und dadurch die letale Dose erhöht.

Durch Adsorption mit Organsuspensionen wird ein Teil der hämolytisch wirkenden Substanzen entzogen, dafür treten aber vielleicht andere Substanzen aus den Geweben in das Serum über und verändern das Serum, so daß jetzt nach der Injektion des Serums das dem Tiere entnommene Blut häufig langsamer in vitro gerinnt.

Infolge der wiederholten Injektion von Hundeserum bilden sich in dem Kaninchen antihämolytisch wirkende Substanzen; die Bildung von Gerinnseln wird daher in solchen Tieren erschwert, und dieselben können große Dosen von Hundeserum intravenös ertragen. Es soll jedoch das Blut solcher immunisierter Tiere noch weiterhin auf sein Verhalten gegenüber hämolytisch wirkenden und gerinnungbeschleunigenden Substanzen geprüft werden, und die hier gegebene Erklärung kann nur als eine vorläufige betrachtet werden, soweit sie sich auf die Widerstandsfähigkeit solcher immunisierter Tiere gegen Injektion von größeren Mengen von Serum bezieht.

Das Rinderserum bewirkt nach seiner Injektion in dem Blute des Kaninchens eine beträchtliche Agglutination der Erythrozyten. Diese agglutinierten Massen werden in die Lungengefäße geführt und bewirken hier bald eine Verstopfung einer großen Zahl der kleineren Äste der Pulmonalarterie und führen so zum Tod unter Erstickungserscheinungen, Erweiterung des rechten Herzens. In diesem Falle sind aber die gerinnungsbewirkenden Stromata nicht diffus in dem zirkulierenden Blut und den Venen verteilt, sondern sie agglutinieren sehr schnell zu größeren Haufen und bleiben in den Lungengefäßen stecken. Hier findet deshalb keine Massengerinnung des Blutes im rechten Herzen und in den Venen statt. Wohl aber bilden sich lokal Gerinnsel um die agglutinierten Haufen von Erythrozyten, die in den Lungengefäßen stecken; so kann sich dann agonal oder in andern Fällen vielleicht auch schon vorher die Bildung größerer Lungenthromben sekundär an die Verstopfung der Lungengefäße durch agglutinierte Zellhaufen anschließen. Falls der Tod nicht in den ersten Minuten eintritt, mögen dann sowohl wie nach Injektion des Hundeserums in gewissen Organen des Kaninchens sekundäre Reaktionen eintreten, die die Blutgerinnung erschweren und die Massenkoagulation des Blutes im rechten Herzen und in den großen Venen verhindern. Einspritzung des Hirudins ist ohne wesentliche Wirkung im Falle des Rinderserums, da Hirudin die Agglutination der Erythrozyten nicht verringert. Nach Injektion des Hirudins wird daher ebensowohl wie vorher eine Verstopfung der Lungengefäße durch agglutinierte Zellmassen stattfinden. Erwärmen des Rinderserums auf 56° während einer halben Stunde verringert die agglutinierende Wirkung des Serums so bedeutend, daß dasselbe nicht mehr imstande ist, eine Verstopfung der Lungengefäße herbeizuführen; es wird daher anstandslos ertragen. Hingegen ist ein mehrstündigiges Stehen bei 38° nicht imstande, die agglutinierende Wirkung des Serums so weit herabzusetzen, daß der Tod dadurch hintangehalten wird.

Durch Adsorption der agglutinierenden Substanz durch gewisse Organsuspensionen wird ebenfalls die letale Dose des Rinderserums erhöht.

Falls der Tod nicht direkt im Anschluß an die Injektion, sondern erst etwas später eintritt, mögen vielleicht auch hier neben der Agglutination der Erythrozyten in gewissen Fällen eine bedeutende Zerstörung der Erythrozyten oder zentrale Wirkung auf das Nervensystem den letalen Ausgang herbeiführen.

Zusammenfassend können wir also feststellen, daß im wesentlichen nach intravenöser Injektion von artfremdem Serum der Tod entweder durch Verstopfung der Lungengefäße durch Fibrinpfröpfe oder durch Haufen von agglutinierten Erythrozyten stattfindet und daß Hundeserum und Rinderserum zwei verschiedene Typen repräsentieren: das Hundeserum ist der Typus eines hämolysierend und koagulierend wirkenden, das Rinderserum ist der Typus eines agglutinierenden Serums. Hiermit soll nicht gesagt sein, daß die betreffenden Eigenschaften auf das eine

oder andere Serum beschränkt sind, sondern diese Abgrenzung soll die charakteristische Wirkung der beiden Sera zum Ausdruck bringen, diejenige Wirkung, durch welche sie den Tod der Tiere herbeiführen.

Die Natur des Problems bringt es mit sich, daß die Beweisführung eine indirekte sein mußte. Aber durch Untersuchung des Blutserums anderer Tiere nach den hier benutzten Methoden wird eine Prüfung der hier gewonnenen Ergebnisse möglich sein.

Zum Schlusse möge noch darauf hingewiesen werden, daß die hier erhobenen Befunde auch bei der Erklärung des Todes nach Injektion artfremder Erythrozyten von Interesse sein mögen. Ob sie gewisse Widersprüche, die sich bei derartigen Untersuchungen bisher ergeben haben, werden aufklären können, kann erst durch besondere Versuche entschieden werden¹⁾. Vielleicht müssen auch hier Kombinationen unterschieden werden, in denen die wesentliche Wirkung in Hämolyse der eingeführten Erythrozyten und in Koagulation besteht, und andererseits Kombinationen, in denen die Agglutination der fremden Erythrozyten vor allem in Betracht kommt.

III.

Versuche über vitale Färbung des Embryo.

(Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.)

Von

Dr. med. S. Z a r e t z k y.

Den Inhalt des vorliegenden Aufsatzes, der ein Glied in der Kette gleichartiger, aus dem Laboratorium von Professor E h r l i c h hervorgegangener Arbeiten darstellt, bilden Beobachtungen über vitale Färbung der Gewebe des Tierorganismus.

Speziell prüfte ich die Fähigkeit verschiedener Farbstoffe, von der Mutter auf den Fötus überzugehen, oder anders ausgedrückt, die Durchgängigkeit des Plazentargewebes für die in den Bluträumen der Mutter zirkulierenden Farbstoffe. Diese Frage gewann ein besonderes Interesse durch die neuerdings veröffentlichten grundlegenden Beobachtungen von G o l d m a n n²⁾. Derselbe studierte die nach Subkutaninjektion von Lösungen typischer vitaler Farbstoffe, besonders von Pyrrolblau und Trypanblau, bei Mäusen und Ratten eintretenden Färbungen, und konstatierte hierbei, daß bei tragenden Tieren der Fötus stets ungefärbt blieb, obschon makroskopisch die Gebärmutter, Plazenta und Frucht-

¹⁾ Vgl. A r t h u r F. C o c a , Die Ursache des plötzlichen Todes bei intravenöser Injektion artfremder Blutkörper. Virch. Arch. Bd. 196 1909 S. 92. Diese Arbeit erschien zu einer Zeit, da ein großer Teil unserer Versuche schon ausgeführt war.

²⁾ Beiträge zur klinischen Chirurgie 1909, Band 64, Heft 1.