

## XII.

## Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Botulismus-Toxins auf die inneren Organe.

(Aus dem Institut Pasteur in Paris und aus dem bakteriologischen Institut in Kiew.)

Von

Dr. W. K o m o t z k i ,

Vorstand des Instituts Pasteur in Minsk (Rußland).

(Hierzu Taf. VI).

Nach v a n E r m e n g e m <sup>6</sup> gebührt Bollinger das Verdienst, im Jahre 1876 eine Reihe von schweren Erkrankungen, die unter dem Bilde der akuten Gastroenteritis verlaufen und deren Ursachen der Genuß von Fleisch an Sepsis erkrankter Tiere ist, zu einer Gruppe vereinigt zu haben. Erst 1888 gelang es G ä r t n e r während einer ähnlichen Epidemie, die entscheidende Rolle nachzuweisen, welche der von ihm in Reinkultur gewonnene Mikroorganismus, der *Bacillus enteritidis* Gärtneri, dabei spielte. — 1897 gewann v a n E r m e n g e m <sup>6</sup> aus Schweineschinken, der sich als für den Menschen giftig erwiesen hatte, Reinkulturen eines Bazillus, welcher ein äußerst stark wirkendes Toxin ausschied.

Nach Beendigung unserer Untersuchungen über die Wirkung des Diphtherie-Toxins <sup>11</sup> auf die Blutgefäße schlug mir Prof. M e t s c h n i k o w vor, in gleicher Richtung mit dem Botulismus-Toxin zu arbeiten .

Ehe wir unsere Untersuchungen im P a s t e u r'schen Institute beenden konnten, war unsere eilige Rückkehr nach Rußland notwendig geworden, wodurch wir gezwungen waren, die Arbeit über das genannte Toxin am Kiewschen Bakteriologischen Institut in der Abteilung meines verehrten Lehrers Prof. W. W y s s o k o w i c z's fortzusetzen.

Die auffälligsten und zugleich interessantesten Veränderungen fanden wir in der Leber und halten es dafür für angebracht, ehe wir unsere eigenen Beobachtungen darlegen, eine kurze Übersicht der Untersuchungen über die Veränderungen in der Leber zu geben, wie sie unter der Einwirkung verschiedener Gifte beobachtet werden.

Vor allem interessierten uns die Resultate der Untersuchungen über die Veränderung innerer Organe unter der Einwirkung bakterieller, in den tierischen Organismus eingeführter Toxine.

In der uns zugänglichen Literatur fanden sich nur zwei Arbeiten mit einer mehr oder weniger genauen Darstellung des mikroskopischen Bildes der Veränderung in der Leber. Es sind Arbeiten von S a n a r e l l i <sup>15</sup> und B j ö r k s t e n <sup>4</sup>.

Durch seine Versuche an Kulturen eines Mikroorganismus, dessen ursächlichen Zusammenhang mit dem gelben Fieber S a n a r e l l i nachzuweisen sucht, fand er bei Hunden in der Leber starke Veränderungen, welche die bei andern Versuchstieren noch übertrafen.

Der Verfasser konstatiert eine sehr starke Erweiterung der Gefäße mit sekundärer Kompression der Leberzellen. Die Kerne dieser Zellen sind schwach färbbar; sie weisen zum Teil Ver-

größerung, zum Teil Verkleinerung ihres Umfanges auf; es zeigte sich viel Fett — mehr sogar als bei der Phosphor-Vergiftung. Das Filtrat der Kulturen von *Bac. icteroidis* besitzt schwache toxische Wirkung; so muß man Hunden schon sehr große Dosen (150—200 ccm) einspritzen, um eine so hohe Fettdegeneration der Leber zu erzeugen wie bei der Einspritzung des Virus. Bei einem Schaf, welches 18 Tage lang 37 ccm erhielt, wurde ebenfalls viel Fett in der Leber gefunden. In den beschriebenen Veränderungen erblickt der Verfasser eine fettige Degeneration. Wir wollen hier gleich bemerken, daß die Abbildungen der histologischen Veränderungen, welche der Autor beifügt, eher als Fettinfiltration angesprochen werden können. Auf Fig. 4 Taf. XIV ist bei starker Vergrößerung ein Flemmingsches Präparat der Leber eines Hundes dargestellt, welchem eine Kultur von *Bac. icter.* eingespritzt wurde; hier sind die gut gefärbten Kerne deutlich sichtbar, die Zellgrenzen lassen sich gut unterscheiden. In einer Zelle, die durchweg mit Fett ausgefüllt ist, ist der mit Saffranin gefärbte Kern deutlich erkennbar. Auf Taf. XVII<sup>bis</sup>, Fig. 1 ist ein ebensolches Präparat von der Leber eines Schafes zu sehen, welchem das Toxin von *Bac. icter.* injiziert wurde; auch hier sind die Kerne gut gefärbt, bloß die Zellgrenzen sind etwas undeutlich. Björkstén hat mit Streptokokken-Toxin gearbeitet, welches nach Dr. Laitinen's Vorschrift dargestellt wurde, und hat degenerative Veränderungen in der Leber nachweisen können.

v. Platens<sup>13</sup> Untersuchungen behandeln die Veränderungen in der Leber unter der Einwirkung von Jodoform (welches dem Organismus eingeführt wurde). Die Abweichung von der Norm bestand in dem Auftreten großer Fettmengen, am auffallendsten und am frühesten in den sog. Sternzellen der Leber, welche sich nach der Angabe des Verfassers zwischen der Kapillarwand und den Leberzellen finden. v. Platen führt die Untersuchung von Ponfick und Eberth an „Über die Ablagerung von Zinnober sowie von melanotischem Pigment vorzugsweise in den Sternzellen“ und glaubt, daß diesen Zellen das Fett in fertigem Zustande aus dem Blute zugeführt werde. Hier wäre zu bemerken, daß es gegenwärtig, besonders nach den Untersuchungen von Konstantinowicz<sup>10</sup>, welcher auch unter normalen Bedingungen häufig bedeutende Fettmengen in den Sternzellen gefunden hat, gewagt wäre, die von dem Verfasser geschilderten Zustände ausschließlich auf pathologische Veränderung zurückzuführen. Straßmann, Nothnagel und Ungar<sup>18</sup> vergifteten Tiere mit Chloroform und fanden ebenfalls große Fettanhäufungen in der Leber. Der erstere nimmt an, daß es sich im gegebenen Falle nicht um Fettinfiltration, sondern um fettige Degeneration handle, bloß aus dem Grunde, weil sich bei hungernden Tieren unter Einwirkung des erwähnten Giftes eine erhöhte Stickstoff-Ausscheidung beobachten lasse.

Die histologischen Untersuchungen Nowaks<sup>12</sup> haben die Veränderung im tierischen Organismus bei Einführung von Schlangen- und Skorpionsgift zum Gegenstande. Dieser beobachtete dabei in den Leberzellen große Massen von Fett, welches sich gleichmäßig über den ganzen Acinus oder vorzugsweise an seiner Peripherie verteilt hatte. Die nekrotischen und nekrobiotischen Veränderungen in der Leber waren besonders deutlich ausgesprochen, wenn die Tiere eine längere Zeit — mehrere Tage — am Leben geblieben waren. Dabei ist die Intensität dieser Veränderungen nicht direkt proportional der größeren oder geringeren Fettanhäufung in der Leber: oft findet sich dort, wo die nekrotischen Veränderungen besonders stark auftreten, sehr wenig Fett und vice versa.

Die entzündlichen Prozesse sind am häufigsten durch eine Infiltration des Bindegewebes durch kleine, einkernige Elemente angedeutet; auch wurden starke Gefäßerweiterungen in der Leber beobachtet mit sekundärer Kompression der Leberzellen. Eingehende Studien über die histologischen Veränderungen der Tierleber bei Alkohol-Vergiftung haben Affanassiew<sup>2</sup> und Kahlén<sup>9</sup> veröffentlicht. Ersterer fand besonders viel Fett in den sternförmigen Zellen der Leber und hier vorzugsweise an der Peripherie der Acini; in gleicher Weise fanden sich auch die nekrotischen Partien verteilt. Häufig fand sich Ablösung der Endothelwand der Kapillaren von den Leberbälkchen, was auf Lymphstauung hinweist. Bei der Injektion großer Alkoholdosen direkt in die Vena portae wurde eine Nekrose der Leberzellen längs der Verzweigung dieser Vene

beobachtet. In diesen nekrotischen Partien fehlte das Fett, während es in den gesunden oder weniger affizierten Gewebsteilen zutage tritt. Die nekrotischen Partien werden in der Folge mit proliferierendem Bindegewebe umgeben. Sobald die Darreichung des Giftes unterbrochen wird, verschwindet das Fett in der Leber. K a h l d e n fand ebenfalls große Fettmassen in den Leberzellen und K u p f f e r s c h e n Zellen, nur darin will er A f f a n a s s i e w nicht beistimmen, daß die Verfettung in der Peripherie der Acini beginne und hier am stärksten ausgesprochen sei.

So war bei einem Hunde besonders im Zentrum des Acinus Fettanhäufung zu beobachten. Die Kerne der Leberzellen färbten sich im allgemeinen gut.

Bei der Vergiftung von Kaninchen mit geringen Dosen Arseniks, so daß sie am dritten bis sechsten Tage eingingen, fand S a i k o w s k y <sup>16</sup> viel Fett, besonders im Zentrum der Acini. Wurden aber starke Dosen gegeben, so daß die Tiere nach 20 bis 28 Stunden fielen, so fand sich das Fett über den ganzen Acinus gleichmäßig verteilt.

Z i e g l e r und O b o l o n s k y <sup>20</sup> haben bei mehr oder weniger lange fortgesetzter Behandlung mit Arsenik fast immer sehr unbedeutende Mengen von Fett in der Leber gefunden, und zwar in Form von Tröpfchen von geringer Größe. Nur in einem Falle unter 20 wurde neben kleinen Tröpfchen eine bedeutende Menge größerer Tropfen nachgewiesen, welche fast ausschließlich in den der Kapillare zugewandten Teilen der Leberzellen angehäuft waren; doch fand sich in diesem Falle in den zentralen Teilen der Acini mehr Fett als in den peripherischen. Die genannten Autoren stehen übrigens an, diese Veränderungen auf die Arsenvergiftung zurückzuführen, da dieser Fall den anderen gegenüber zu vereinzelt dasteht.

In vielen Fällen konnten außer einem größeren oder geringeren Fettgehalt in der Leber keine Veränderungen nachgewiesen werden, in anderen Fällen aber kam noch eine schwache Färbung der Kerne in den einzelnen Zellen hinzu, sowie ihr Zerfall in Chromatinkörnchen.

Die Sternzellen enthalten meist viel Fett und bei nicht allzu lange fortgesetzter Vergiftung ist die Fettmenge viel bedeutender als in den Leberzellen selbst. Die Einwanderung von Leukozyten war nur schwach ausgesprochen. In den Endothelien wurden nur in einzelnen Fällen geringe Fettmengen nachgewiesen. Zellproliferation wurde ziemlich häufig beobachtet.

Bei Hunden wurde bei drei Monate andauernder Arsendarreichung viel Fett gefunden: in den Leberzellen fast durchweg, ferner in einer großen Anzahl von Endothelien, in den Epithelien der Gallengänge sowie in einzelnen Bindegewebszellen. Zellproliferation wurde nicht beobachtet.

Wurden die Versuchstiere einer mehr oder weniger lange andauernden Behandlung mit geringen Phosphordosen unterworfen, so konnten die Verfasser auch hier konstatieren, daß, wie bei der Arsenvergiftung, Hunde und Kaninchen verschieden reagierten. So waren bei Hunden die degenerativen Veränderungen, zu denen die Verfasser auch das Auftreten größerer oder geringerer Fettmengen in den Zellen rechnen, viel stärker ausgeprägt als bei Kaninchen. Solche Veränderungen sind besonders charakterisiert durch das Auftreten von Fett in den Leberzellen, schwacher Kernfärbung in einigen Zellen, Zerfall der Kerne in Chromatinkörnchen sowie Vakuolenbildung im Protoplasma. Das Fett ist gleichmäßig über den ganzen Acinus verteilt, nur in einzelnen Fällen nimmt es nur die peripherischen Partien ein; die K u p f f e r s c h e n Zellen enthalten sowohl bei mehr akuter als bei mehr chronischer Vergiftung viel Fett; die Kapillar-Endothelien enthalten nur ausnahmsweise Fett. Die leukozytäre Infiltration ist bei Phosphorvergiftung noch unbedeutender als bei der Vergiftung mit Arsen. W o l k o w <sup>19</sup> hat die Versuche von Z i e g l e r und O b o l o n s k y wiederholt und ebenfalls gefunden, daß das Fett gleichmäßig über den ganzen Acinus verteilt war. Dieser Autor hat wie auch P o d w y s s o t z k y zahlreiche recht umfangreiche, makroskopisch jedoch nicht wahrnehmbare nekrotische Partien besonders an der Peripherie der Acini gefunden; in ihrer Umgebung war keine Spur von entzündlichen oder Proliferationsprozessen zu beobachten. In diesen nekrotischen Gewebsteilen fand der Autor keine größeren Fettmengen als in gesundem Gewebe und schloß daraus: „Ein Zerfall der Zellen mittelst Fettdegeneration läßt sich nicht beobachten“; dabei konnte die Anwesenheit von Fett in denjenigen Zellen beobachtet werden, welche sich im Stadium der Mitose befanden.

Cornil und Brault<sup>5</sup> haben die histologischen Vorgänge in der Leber vom Meerschweinchen untersucht, die mit großen Phosphor- und Arsenmengen vergiftet waren. Die Verfasser schildern eine hochgradige fettige Degeneration und sagen dann auf S. 6 unter anderem: „Les mailles sont remplies par un détritux graisseux; elles contiennent aussi des noyaux libres appartenant aux cellules hépatiques préexistantes.“ Am Schluß ihrer Beschreibung der Veränderungen in der Leber bei Phosphordarreichung sagen die Verfasser auf S. 6: „La série des phénomènes précédemment décrits ne laisse aucun doute sur la nature du processus histologique. Les lésions cellulaires, depuis le début jusqu'à l'altération la plus avancée, sont essentiellement régressives. La dilatation vésiculeuse de la cellule et du noyau, la difficulté, pour ne pas dire l'impossibilité de colorer ce dernier dans certains cas, la dégénérescence graisseuse rapide et complète qui termine la série des modifications pathologiques élémentaires prouvent, que le phosphore détruit les éléments sur place sans provoquer de phénomènes réactionnels ni d'inflammations de voisinage. C'est de la nécrobiose pure.“

Wenn man das Auftreten großer Fettmengen in den Zellen nicht als Zeichen ihrer Degeneration auffassen will, so erhält daraus, daß die genannten Autoren in diesem Organe keine auffallenden nekrotischen Veränderungen gefunden haben. Offenbar geben sie zu, daß bei vollständigem Zerfall des Protoplasmas der Zellkern erhalten bleiben könne.

Bei der Arsenvergiftung findet sich in der Leber bedeutend weniger Fett als bei der Phosphorvergiftung; andere Degenerationszeichen haben die Verfasser nicht entdecken können und bemerken hierzu auf S. 11: „Les cellules ne présentent ni tuméfaction ni ramollissement de leur protoplasma, ni l'apparence réticulée, que nous avons observés dans l'intoxication phosphorique.“ Wir wollen noch hinzufügen, daß sich bei der Phosphorvergiftung die größten Fettmengen an der Peripherie der Acini fanden und dort am ehesten auftraten, bei der Arsenvergiftung aber sich gleichmäßig über den ganzen Acinus verteilten.

Podwyssozky<sup>14</sup>, welcher zuerst das Auftreten nekrotischer Partien (fast ausschließlich an der Peripherie der Acini) in der Leber bei Phosphor- und Arsenvergiftung beobachtet hat, faßt seine Arbeit in neun Thesen zusammen; von denen wir uns die folgenden drei unverkürzt anzuführen erlauben:

1. Phosphor und Arsen töten bei subkutaner Injektion von 0,005 bis 0,01 g ein Meerschweinchen im Laufe von 6, 8—10 Stunden, wobei in den Organen, besonders in der Leber, noch keine fettige Metamorphose zu finden ist.

2. Es bilden sich in dieser Zeit kleine, zirkumskripte gelblich-weiße nekrotische Herde des Lebergewebes, welche auf eine direkte Einwirkung des im Blute zirkulierenden Giftes zurückzuführen sind.

3. Die Fettmetamorphose tritt in der Leber erst 24 Stunden nach Einführung des Giftes auf, wobei die abgestorbenen Zellen der Fettmetamorphose nicht unterliegen, sondern nur diejenigen Zellen, welche die nekrotischen Herde umgeben.

Stolnikoff<sup>17</sup> hat an Tieren verschiedene, äußerst komplizierte, Veränderungen bei der Phosphorvergiftung beobachtet, welche nach seiner Angabe zuweilen bis zum völligen Verschwinden der mikroskopischen Struktur gediehen. Dieser Autor erwähnt ferner den Umstand, daß bei der Phosphor-Vergiftung Glykogen vollständig aus der Leber verschwindet.

Ackermann<sup>1</sup> und Krönig<sup>8</sup> haben ebenfalls nekrotische und nekrobiotische Veränderungen der Leberzellen bei Anwendung dieses Giftes beobachtet.

Aufrecht<sup>9</sup> hat bei Phosphorintoxikation häufig schwache Kernfärbung, Vakuolenbildung und Zerfall der Kerne in Chromatinkörnchen beobachtet. In einem Falle ließen sich die Kerne aller Leberzellen nur äußerst schwach oder gar nicht färben. Häufig beobachtete er ebenfalls Vakuolenbildung im Protoplasma und Quellung des Zellkerns. Bezüglich der Frage der Fettdegeneration kommt der Verfasser zu dem Schluß: „Die Verfettung der Zelle an und für sich kann den Untergang der Zelle nicht herbeiführen.“

Die noch bis in die jüngste Zeit herrschende Überzeugung von der Möglichkeit eines Zerfalles von Eiweiß in Harnstoff (oder irgendeine andere Stickstoffverbindung) und Fett hatte seine Basis in der Pathologie gefunden und besonders in dem Umstande, daß bei verschiedenen Vergiftungen, besonders bei der mit Phosphor, Arsen und Alkohol, die Forscher in den Organen neben großen Fettmengen zugleich mehr oder weniger ausgesprochene degenerative Veränderungen an den Zellen beobachtet hatten. Die Fettdegeneration der Leber hatte dabei als Paradigma für entsprechende Vorgänge in andern Organen gedient.

Wir haben oben die Ergebnisse einer ganzen Reihe von Untersuchungen über die Veränderungen der Leber unter der Einwirkung verschiedener Gifte besprochen und haben gesehen, daß die Mehrzahl der Autoren das Erscheinen des Fettes mit dem Transportprozeß erklären und keinen Zusammenhang zwischen der Menge des Fettes einerseits und der Degeneration der Leberzellen andererseits hatte konstatieren können.

So nimmt v. Platen an, daß das Fett den Leberzellen durch das Blut zugeführt werde; Nowak fand keine Übereinstimmung zwischen dem Umfange der degenerativen Prozesse in den Zellen und den in ihnen vorgefundenen größeren oder geringeren Fettmengen; Afanassiew konnte nur in den intakten oder wenig veränderten Partien der Leber Fett nachweisen; Wolkow kommt zu dem Ergebnis: „Ein Zerfall der Zellen mittelst Fettdegeneration läßt sich nicht beobachten.“

Podwyssotzky beobachtete bei Phosphor- und Arsenvergiftung schon nach 6 bis 10 Stunden nekrotische Herde in der Leber, ohne Fett nachweisen zu können, welches erst 24 Stunden nach der Vergiftung auftritt. Kahlde n fand bei der Vergiftung von Tieren mit Alkohol große Massen von Fett in der Leber, die Leberzellen aber ließen sich im allgemeinen überall gut färben.

Ziegler und Obolonsky fanden bei Phosphor- und Arsenvergiftung stets mehr oder weniger bedeutende Mengen Fett in der Leber; in vielen Fällen, besonders bei der Arsenvergiftung, waren weiter keine Veränderungen zu konstatieren; bei der Phosphorvergiftung aber werden, außer der Anwesenheit von Fett, degenerative Veränderungen erwähnt, welche sich in den meisten Fällen zu Vakuolenbildung im Protoplasma, schwacher Färbung der Kerne zu ihrem Zerfall in Chromatinkörnchen in Beziehung setzen ließen, jedoch nur in einzelnen Zellen. Cornil und Brault fanden, wie wir gesehen haben, unter Einwirkung von Arsen keine Veränderungen in den Zellen, bei der Phosphorvergiftung sind die degenerativen Veränderungen unbedeutend und stehen daher in keinem Verhältnis zu der beobachteten Fettmenge. Dennoch wollen die Verfasser in den beschriebenen Veränderungen eine Fettdegeneration erblicken.

Die Ergebnisse der Untersuchungen Stolnikoffs, der starke Veränderungen — bis zum völligen Verschwinden der Leberstruktur, beobachtet haben will, haben offenbar in den Untersuchungen anderer Forscher keine Bestätigung gefunden.

Herxheimer erwähnt in seinem Referat<sup>7</sup> die Untersuchungen Fibigers, der seine Versuchstiere mit Phosphor, aber auch mit Diphtherie-Toxin vergiftet hatte. Dieser Forscher, sagt er, ist der Ansicht, daß das Fett bei Anwendung der genannten Gifte der Leber von außen zugeführt werde, sich aber innerhalb des Organes nicht bilde. v. Freeden<sup>7</sup> hat bei Karbolvergiftung, aber ebenso bei Diabetes und Leberzirrhose häufig Fett gefunden, aber nur in den äußeren der Kapillare zugewandten Teilen der Leberzellen, und nimmt an, daß das Fett den Zellen durch den Blutstrom zugeführt werde.

Auf Grund der obigen Ausführungen müssen wir bekennen, daß die angeführten histologischen Untersuchungen nicht für die Lehre von der Fettdegeneration zu

sprechen scheinen, d. h. der Lehre von dem unter pathologischen Bedingungen stattfindenden Zerfall des Zelleiweißes, bei welchem das Fett als eines der Zerfallsprodukte auftritt.

Eine der seltensten Erkrankungen mit unbekannter Ätiologie, die akute gelbe Leberatrophie, bei welcher mit dem Auftreten großer Fettmengen zweifellos ein umfangreicher Zerfall der Parenchymzellen einhergeht, unterstützt offenbar die Theorie von der fettigen Degeneration; aber auch hier liegt die Sache möglicherweise so, daß beim Beginn der Erkrankung die gesunden oder nur wenig affizierten Leberzellen das Fett von außen aufnehmen und erst sekundär zerfallen.

Unsere eigenen Untersuchungen haben wir fast ausschließlich an Meerschweinchen vorgenommen, nachdem 3 Kaninchen, welchen ziemlich bedeutende Mengen von Toxin eingespritzt wurden und von denen eines 4, das zweite 6, das dritte 8 Tage am Leben blieb, keine wesentlichen Veränderungen in den inneren Organen aufgewiesen hatten.

Im Pasteur'schen Institut hatten wir fertiges Toxin zur Verfügung, welches uns auf Prof. Metschnikoff's Ansuchen von Dr. Morax freundlichst überlassen wurde. Im Kiewschen Bakteriologischen Institute züchteten wir selbst den Bacillus botul. (die Kultur hatte Prof. Wyssokowicz von Prof. I. Danysz erhalten) in einer Wasserstoffatmosphäre auf alkalischer Bouillon und filtrierten nach 17 Tagen durch eine Chamberland-Kerze. Wie schon andere Autoren, so konnten auch wir einen scharfen, an ranzige Butter erinnernden Geruch an der Toxinbouillon wahrnehmen. Das von uns gewonnene Toxin wies eine bedeutend geringere Toxizität als das von Dr. Morax erhaltene auf. Bei letzterem betrug die tödliche Dosis  $\frac{1}{150}$  cem, während von ersterem ein halber, ja ein ganzer Kubikzentimeter eingespritzt werden mußte.

Während wir bei unseren Arbeiten in Paris bemüht waren, nach Möglichkeit chronische Intoxikationen zu erzeugen, warteten wir den Tod der Versuchstiere stets ab und schritten dann sofort nach seinem Eintritt zur Autopsie. Nur diejenigen Tiere wurden zur histologischen Untersuchung verwendet, bei denen die dem Herzen und der Leber entnommenen Blutproben sich steril erwiesen.

Die Injektion wurde unter die Bauchhaut appliziert, das Toxin mit steriler physiologischer Lösung verdünnt. Stücke der Organe wurden in Flemming'scher Lösung gehärtet, aber auch abwechselnd bald in zehnprozentiger Formalinlösung mit Zusatz geringer Mengen von Chromsäure ( $\frac{1}{6}$  bis  $\frac{1}{10}$  %), bald in gesättigter Sublimatlösung, bald in van Beneden's Mischung.

Bei der Überführung der Präparate aus absolutem Alkohol in Paraffin bedienten wir uns ausschließlich des Chloroforms, ein Verfahren, das wir dem Biologischen Laboratorium von Oskar Hertwig in Berlin entlehnt haben und das uns sehr gute Dienste leistete.

Bei unseren Pariser Untersuchungen waren wir darauf bedacht gewesen, möglichst andauernde Vergiftungen der Versuchstiere zu erzielen, während wir in Kiew die größtmögliche Sättigung des Tierorganismus mit Toxin anstrebten; die Resultate der beiden Untersuchungsreihen konnten also nicht in allen Punkten übereinstimmen. Wir halten es daher für angezeigt, in chronologischer Folge erst

die Ergebnisse unserer Arbeiten am Pasteurschen Institute, sodann unsere Untersuchungen aus dem Kiewer Bakteriologischen Institute zu behandeln.

Zur histologischen Untersuchung (in Paris) wählten wir Stückchen von der Leber, von der Milz, von den Nieren und vom Herzen, wobei gleich hier bemerkt werden soll, daß die morphologischen Veränderungen bei den letzteren drei Organen (wenn man von starker Gefäßerweiterung in allen, von einer deutlichen Leukozytose im Blute in vielen Fällen absehen will) sehr unbedeutend waren.

Nur in der Milz von einem Meerschweinchen, welches 49 Tage am Leben geblieben war und 7 Toxineinspritzungen erhalten hatte, konnten wir zahlreiche und ausgebreitete nekrotische Partien nachweisen, wobei das Organ etwa auf das Doppelte vergrößert war.

In der Leber fanden wir hingegen auffallende Veränderungen vor, deren Beschreibung uns im folgenden beschäftigen soll. Vorher müssen wir jedoch erwähnen, daß bei sämtlichen untersuchten Organen und bei allen Versuchstieren, sowohl bei Meerschweinchen als bei Kaninchen, eine mehr oder weniger starke Erweiterung der Blutgefäße, besonders der Kapillaren und Venen, beobachtet wurde.

Wir gehen jetzt zur Beschreibung der Veränderungen in der Leber über und wollen nur im voraus bemerken, daß von 18 Versuchstieren, welche eine einmalige Einspritzung von  $\frac{1}{50}$  ccm Toxin erhalten hatten, eines am 5. Tage einging, drei am 6. Tage; vier am 7.; eines am 8.; eines am 9.; zwei am 10.; vier am 11.; eines am 15. und eines am 16. Tage. Von 6 Meerschweinchen, welchen eine einmalige Injektion von  $\frac{1}{100}$  ccm Toxin appliziert worden war, fielen drei am 4. und eines am 7. Tage.

Bei der Feststellung der Wirkungskraft des Toxins wurden einem Meerschweinchen  $\frac{1}{10}$ , einem andern 1 ccm eingespritzt — beide gingen am 3. Tage ein.

Von besonders widerstandsfähigen Exemplaren, welche wiederholte Einspritzungen in Zwischenräumen von mehreren Tagen vertrugen, hatten wir fünf; von ihnen blieb eines 10, das zweite 17, das dritte 18, das vierte 23 und das fünfte 49 Tage am Leben; dieses letztere zeigte sich besonders resistent und bekam in dieser Zeit 7 Injektionen, und zwar von  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{1}{50}$ ,  $\frac{1}{30}$ ,  $\frac{1}{10}$  und  $\frac{1}{2}$  ccm Toxin; leider mußten wir es anläßlich unserer Abfahrt aus Paris dann töten.

Außer der oben erwähnten Hyperämie und Leukozytose beobachteten wir in der Leber häufig (in 17 Fällen unter 31) Blutstauung, welche durch besonders starke Erweiterung und Füllung der Vena centralis und der in sie mündenden Kapillaren mit sekundärer Druckatrophie der Leberzellen angedeutet war; auch ließ sich in vereinzelt Fällen Ablösung der endothelialen Kapillarwand (ohne Kontinuitätstrennung) von den Leberbälkchen und in dem dadurch gebildeten Zwischenraum eine albuminöse Flüssigkeit beobachten. Das Toxin des Botulismus ist imstande, eine starke Nekrotisierung des Leberparenchyms hervorzurufen, ein Prozeß, welchen wir in der Hälfte aller Fälle nachweisen konnten, wobei die Nekrose einen miliaren Charakter zeigte. Sie tritt dann in Form verschiedener großer Herde

auf, in deren Verteilung über den Acinus sich in den meisten Fällen keine Gesetzmäßigkeit konstatieren ließ, indem die nekrotischen Herde bald im Zentrum, bald in der Peripherie des Acinus angetroffen werden.

Nur in drei Fällen unserer Beobachtungen waren die nekrotischen Prozesse ausnahmsweise im Zentrum der Acini lokalisiert, und in zwei von diesen Fällen kamen die Stauungserscheinungen so schwach zum Ausdruck, daß sie wohl keine wesentliche Rolle bei der Vernichtung der Leberzellen hatten spielen können.

Die Nekrose der Kerne erscheint in der Mehrzahl der Fälle unter dem Bilde der Karyorhexis, seltener unter dem der Karyolysis; Kernpyknose fand sich in einem Falle sehr zahlreich und scharf ausgesprochen.

In den morphologisch unveränderten Partien des Lebergewebes haben wir niemals eine Auswanderung von Leukozyten beobachtet, doch waren ausnahmslos alle nekrotischen Teile, selbst die allerkleinsten, von einer großen Anzahl polymorpher Leukozyten durchsetzt, welche in einigen Fällen in solcher Menge angehäuften waren, daß man sie als Eiterherde ansprechen konnte.

Wieder in einigen Fällen konnte man außer der Auswanderung der Leukozyten eine deutlich ausgesprochene Wucherung des Granulationsgewebes konstatieren, welche die nekrotischen Herde umrandeten; eben die Vermehrung dieser Elemente hatte zu einer Einkapselung der nekrotischen Herde geführt. Am deutlichsten fand sich dieser Prozeß bei dem Meerschweinchen ausgeprägt, welches 49 Tage am Leben geblieben war und in dieser Zeit 7 Injektionen bekommen hatte; in der Leber dieses Tieres wurden bei der Sektion eine große Menge grauer Knötchen entdeckt, die sich bei der mikroskopischen Untersuchung als nekrotische Herde mit starker Leukozyteninfiltration, besonders in der Peripherie, erwiesen; auf diese Leukozytenschicht folgte eine Zone von schwach färbbarem Granulationsgewebe, welches aus großen Spindel- und Sternzellen bestand, die große, blasenförmige Kerne von schwacher Färbbarkeit enthielten — offenbar proliferierte Endothelzellen.

In einem Drittel der Fälle fanden wir große Fettmengen in der Leber, welche vorzugsweise oder ausschließlich in den zentralen Teilen der Acini lokalisiert waren. Bloß in 2 Fällen war das Fett gleichmäßig verteilt. Ein Vorherrschen des Fettes in der Peripherie wurde niemals beobachtet.

In Kiew haben wir ebenfalls an Meerschweinchen gearbeitet, wobei es, wie schon oben bemerkt, bei der schwachen Virulenz des Toxins nötig wurde, solches in sehr großen Dosen anzuwenden; dabei hatten wir nicht sowohl einen möglichst anhaltenden Krankheitsverlauf bei den Tieren im Auge, als es uns darum zu tun war, ihren Organismus nach Möglichkeit mit dem Toxin zu sättigen.

Drei Meerschweinchen erhielten eine einmalige Injektion großer Mengen von Toxin, nämlich zwei bekamen je 4 ccm, eines erhielt 10 ccm. An den übrigen Tieren wurden wiederholte Einspritzungen von geringeren Mengen Toxin vorgenommen.

Die Lebensdauer der Tiere betrug 2 bis 11 Tage.

Hyperämien und Stauungserscheinungen wurden in derselben Häufigkeit



## Schematische Übersicht der Versuchsergebnisse in Paris.

Die Zeichen (+ 0) sollen den mehr oder weniger positiven resp. negativen Befund ausdrücken.

Lauf. Nr.	Nr. der Versuchstiere	Eingespritzte Toxinmenge in ccm	Krankheitsdauer in Tagen	Hyperämie	Stauungs-Erscheinung.	Leukozytose	Leukozytäre Infiltration	Granulationsgeweb.	Nekrosen	Fett im Leberacinus		
										an d. Peripherie	im Zentrum	Diffus
1	89	$\frac{1}{150}$	4	+	0	0	0	0	0	0	0	0
2	86/160	$\frac{1}{150}$	5	+	++	++	+	0	+	0	+	0
3	11/160	$\frac{1}{150}$	5	+	0	0	0	0	0	0	0	0
4	27/160	$\frac{1}{150}$	5	+	+	++	+	0	+	+	++	+
5	41/160	$\frac{1}{150}$	6	+	++	++	+	+	+	0	++	0
6	82	$\frac{1}{150}$	6	+	+	+	+	0	+	0	0	0
7	93	$\frac{1}{150}$	6	+	+	+	++	0	++	0	0	0
8	98	$\frac{1}{150}$	6	+	++	++	++	0	++	0	0	0
9	38/160	$\frac{1}{150}$	7	+	0	0	0	0	0	0	0	0
10	60	$\frac{1}{150}$	8	+	0	0	0	0	0	0	0	0
11	56	$\frac{1}{150}$	9	+	+	+	+	+	1)	0	0	0
12	36	$\frac{1}{150}$	9	++	++	++	++	0	++	0	0	0
13	22	$\frac{1}{150}$	10	+	0	0	0	0	0	0	++	0
14	26	$\frac{1}{150}$	10	+	+	+	++	+	++	0	0	0
15	52	$\frac{1}{150}$	10	+	0	0	0	0	0	0	0	0
16	55	$\frac{1}{150}$	10	+	+	0	+	0	+	0	0	0
17	64	$\frac{1}{150}$	14	+	+	+	+	0	+	+	++	0
18	47	$\frac{1}{150}$	15	+	+	+	+	0	+	+	+++	0
19	92	$\frac{1}{100}$	3	+	0	+	0	0	0	0	0	0
20	87											
	30. April	$\frac{1}{100}$	3	+	0	+	0	0	0	0	0	0
21	83	$\frac{1}{100}$	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	71/160	$\frac{1}{100}$	4	+	0	++	+	0	0	++	++	+
23	38	$\frac{1}{100}$	4	++	++	++	++	++	++	0	0	0
24	72/158	$\frac{1}{100}$	6	+	0	+	+	0	1)	0	0	0
25	86/158	$\frac{1}{10}$	2	+	0	0	0	0	0	0	0	0
26	97/160	1	2	+	0	+	+	0	+	0	0	0
27	53	$\frac{1}{150}$ , $\frac{1}{150}$	18	+	+	+	0	0	0	+++	+++	+
28	87	$\frac{1}{150}$ , $\frac{1}{150}$	23	+	+	+	0	0	0	+++	++	+
	19. Juni											
29	25	$\frac{1}{100}$ , $\frac{1}{100}$	10	+	0	+	+	0	0	2)	+	0
30	33	$\frac{1}{160}$ , $\frac{1}{100}$	17	+	+	+	0	0	0	2)	++	0
		$\frac{1}{100}$										
31	95	$\frac{1}{100}$ , $\frac{1}{100}$ , $\frac{1}{100}$ , $\frac{1}{50}$ , $\frac{1}{30}$ , $\frac{1}{10}$ , $\frac{1}{2}$	49	++	+++	+	+++	+++	+++	0	0	0

beobachtet wie in Paris. Leukozytose kam häufiger, d. h. in allen Versuchsfällen, zur Beobachtung.

Was die Leukozyteninfiltration anbelangt, so konnten wir diese stets in den nekrotischen Herden beobachten, einen Fall ausgenommen, in welchem es sich um kleine, aus mehreren zerfallenden Zellelementen bestehende nekrotische Partien handelte, wo die Infiltration fehlte. Die nekrotischen Partien sind im ganzen kleiner und kommen seltener vor; die Proliferation des Granulationsgewebes ist ebenfalls weniger intensiv als bei unseren Pariser Untersuchungen.

1) Ein vereinzelter Herd.

2) Einzelne Tropfen.

Schematische Übersicht der Versuchsergebnisse in Kiew.  
Die Zeichen (+ 0) sollen den mehr oder weniger positiven bzw. negativen Befund ausdrücken.

Lauf. Nr.	Nr. der Versuchstiere	Eingespritzte Toxinmenge in ccm	Krankheitsdauer in Tagen	Gewicht der Versuchstiere		Hyperämie	Stauungs-Erscheinungen	Leukozytose	Leukozytäre Infiltration.	Granulations-Gewebe	Nekrosen	Fett im Leberacinus		
				bei Beginn d. Versuchs	Am Schluß d. Versuchs							an der Peripherie	im Zentrum	Diffus
1	14	$\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}$ $\frac{1}{2} = 2,5$	7	435 g	325 g	+	+	+	+	0	+	++	0	0
2	1	$\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}$ $\frac{1}{2} = 3$	11	475	365	+	++	+	0	0	0	<sup>1)</sup>	<sup>1)</sup>	0
3	39	1, 1, 1 = 3	4	300	255	+	++	+	0	0	0	++	++	++
4	84	1, 2 = 3	5	420	355	+	0	+	+	0	+	+++	+++	+++
5	91	4	2	445	390	+	0	+	0	0	0	+	+	0
6	89	4	4	455	438	+	0	+	+	+	+	<sup>1)</sup>	<sup>1)</sup>	0
7	16	1, 2, 2, 2 = 7	5	375	330	+	0	++	+	+	+	+++	++	+
8	30	1, 2, 2, 2 = 7	5	385	350	+	0	++	+	0	0	+++	+	0
9	21	2, 2, 2, 2 = 8	5	475	415	+	+	++	+	+	+	+++	+	0
10	34	2, 2, 2, 2 = 8	6	550	460	+	0	+	0	0	0	+++	++	+
11	48	10	2	445		+	0	+	0	0	0	0	0	0
12	8	2, 2, 2, 3, 3, 3 = 15	6	720	670	+	++	+	+	0	+	+++	+	0
13	82	10, 10 = 20	3	450		+	0	+	0	0	+	+++	+	0

Eine Gesetzmäßigkeit in der Anordnung der nekrotischen Herde im Zentrum oder an der Peripherie haben wir nicht feststellen können.

Bei unseren Kiewer Versuchen beobachteten wir bedeutend größere Fettmengen in der Leber als in Paris. In einigen Fällen war der ganze Acinus durchweg vom Osmium schwarz gefärbt. Nach den Zeichnungen und Beschreibungen zu schließen, hat nur ein einziger Autor, der mit bakteriellen Giften arbeitete, ebenfalls so bedeutende Fettmengen gefunden, wie wir in Kiew, und zwar ist dies Sanarelli in seinen Arbeiten über die Ätiologie des gelben Fiebers. Die Veränderungen in der Menschenleber sind bei dieser Krankheit nach Sanarelli fast identisch mit denjenigen, welche bei Botulismus (Toxin) beobachtet werden: sehr bedeutende Hyperämie, zahlreiche nekrotische Herde mit Leukozyteninvasion und enorme Fettmengen.

Wie schon erwähnt, haben wir in Kiew keine zentrale Gruppierung des Fettes beobachten können, es war vielmehr vorzugsweise an der Peripherie anzutreffen mit Ausnahme der Fälle von diffuser Verteilung über den ganzen Acinus.

Wie in Paris, so sahen wir auch in Kiew im Endothel der Kapillaren nur in sehr seltenen Fällen Fett auftreten, und auch da nur in einzelnen Zellen.

Was die Frage anbelangt über die Entstehung des Fettes bei der Botulismus-intoxikation, wollen wir uns an Mangel von Versuchen eben in dieser Richtung

<sup>1)</sup> Einzelne Tropfen.

nicht bestimmt ausdrücken, aber in Betracht ziehend alles vorher Gesagte nehmen wir an, daß wir es mit der Fettinfiltration zu tun hatten; hierbei bemerken wir, daß das Fett am häufigsten in Form von großen und mittelgroßen Tropfen auftrat.

Die Resultate der einzelnen Versuche sind aus den vorstehenden Tabellen I und II zu entnehmen.

### Literatur.

1. Ackermann, Die Histogenese und Histologie der Leberzirrhose. Virch. Arch. Bd. 115, 1889. — 2. Afanassijew, W., Zur Pathologie des akuten und chronischen Alkoholismus. Zieglers Beitr. Bd. 8, 1890. — 3. Aufrecht, Experimentelle Leberzirrhose nach Phosphor. D. Arch. f. klin. Med. Bd. 58, 1896. — 4. Björkstén, M., Die Wirkung der Streptokokken und ihrer Toxine auf die Leber. Zieglers Beitr. Bd. 25, 1899. — 5. Cornil V. A. Brault, Recherches histologiques relatives à l'état du Foie, du Rein et du Poumon dans l'empoisonnement par le phosphore et par l'arsenic. Journ. de l'anat. et de la physiol. t. XVIII, 1882. — 6. Ermengem, van, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. Handb. d. Pathog.-Mikroorg. von Kollé und Wassermann, 9. u. 10. Liefg., 1903; Ztschr. f. Hyg. 1897. — 7. Herxheimer, G., Über Fettinfiltration und Degeneration. Lubarschs Ergebnisse, 8. Jahrg., 1902. Wiesbaden 1904. — 8. Krönig, G., Die Genese der chronischen interstitiellen Phosphorhepatitis. Virch. Arch. Bd. 110, 1887. — 9. Kahlén, E., Experimentelle Untersuchung über die Wirkung des Alkohols auf Leber und Nieren. Zieglers Beitr. zur pathol. Anatomie u. zur allgem. Pathol. Bd. 9, 1890. — 10. Konstantinowitsch, Zur Frage über Fettdegeneration. Kiew 1903. — 11. Komotzki, W., Recherches sur les lésions vasculaires provoqués par les toxines diphtériques. Annales de l'inst. Pasteur t. XVI, 1902. — 12. Nowak, J., Étude expérimentale des alterations histologiques produites dans l'organismes par les venins des serpents venimeux et des scorpions. Annales de l'inst. Pasteur Nr. 6, 1898. — 13. Platen, O., Zur fettigen Degeneration der Leber. Virch. Arch. Bd. 74, 1878. — 14. Podwyssotzky, W., Über einige noch nicht beschriebene pathologische Veränderungen in der Leber bei akuter Phosphor- und Arsenikvergiftung. St. Petersburger med. Wschr. 1888. — 15. Sanarelli, S., Etiologie et Pathogenie de la fièvre jaune. Annales de l'inst. Pasteur Nr. 6, 1897. — 16. Saikowsky, Zur Frage über Arsenwirkung auf den Organismus. Virch. Arch. Bd. 34, 1865 und Ztbl. f. d. med. Wiss. 1865. — 17. Stolnikow, Vorgänge in den Leberzellen insbesondere bei der Phosphorvergiftung. Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt., Supplem.-Bd. 1887. — 18. Straßmann, T., Die tödliche Nachwirkung des Chloroforms. Virch. Arch. Bd. 115, 1889. — 19. Wolkow, Über das Verhalten der degenerativen und progressiven Vorgänge in der Leber bei Arsenvergiftung. Virch. Arch. Bd. 127, 1892. — 20. Ziegler, L., und Obolonsky, N., Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Arsens und des Phosphors auf die Leber und die Nieren. Zieglers Beitr. Bd. 2, 1888.

### Erklärung der Abbildungen auf Taf. VI<sup>1)</sup>.

- Fig. 1. Meerschweinchen Nr. 95 (Paris). Schnitt durch die Leber bei Lupenvergr. Zahlreiche nekrotische Herde. Die schwachgefärbte Mitte (a) entspricht dem Zentrum der Nekrose, wo die Zellkerne sich nicht färben lassen. Die stark blau gefärbte Zone (b) bezeichnet die leukozytäre Infiltration. Der äußere hellere Kreis (c) ist Granulationsgewebe. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin.
- Fig. 2. Meerschweinchen Nr. 87. Untersuchung vom 19. Juni (Paris). Leberschnitt. Sehr starke Fettanhäufung im ganzen Acinus, besonders um die V. central. (a), weniger in der Gegend des Pfortaderzweiges (b). Färbung mit Hämatoxylin-Eosin.
- Fig. 3. Fünf durch Abkratzen isolierte Leberzellen aus derselben Leber, der das Präparat (Fig. 2) entstammt. Härtung mit Flemmingscher Lösung. Alle Kerne zeigen deutliche Safranin-Färbung.
- Fig. 4. Meerschweinchen Nr. 47 (Paris). Sehr viel durch Osmium schwarz gefärbtes Fett um die V. centralis. Flemmingsches Präparat. Safraninfärbung.

<sup>1)</sup> Die Zeichnung der mikroskopischen Bilder verdanke ich der Liebenswürdigkeit meines verehrten Kollegen, Herrn Dr. B. Fursenk o.

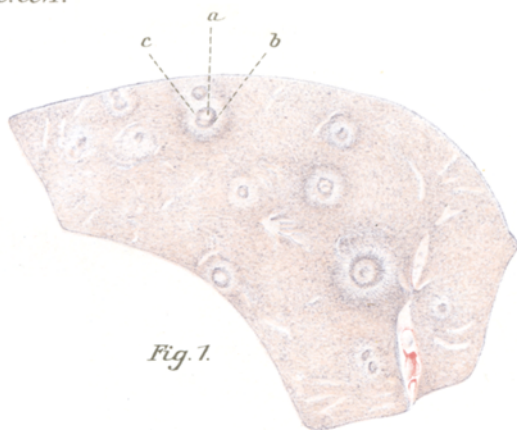


Fig. 1.

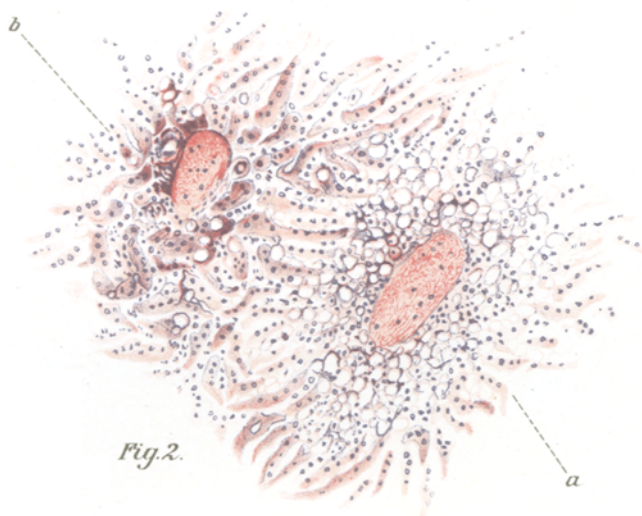


Fig. 2.

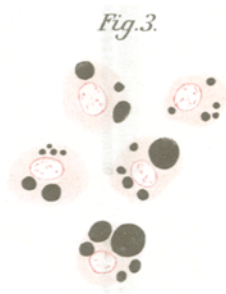


Fig. 3.

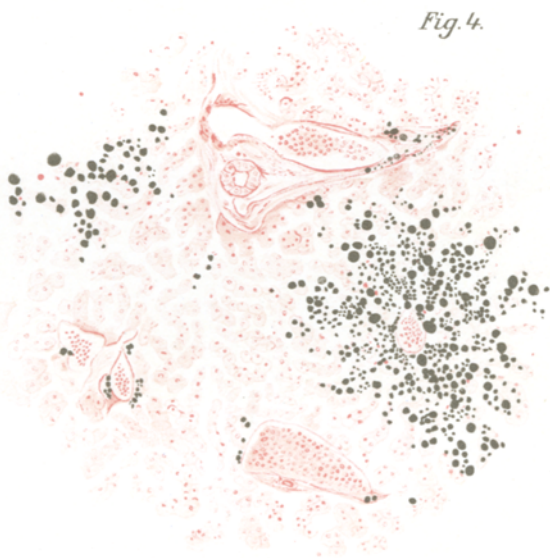


Fig. 4.