

(Aus der II. medizinischen Universitätsklinik in Wien. — Vorstand: Prof.
Dr. N. Ortner.)

**Über die bei Ratten nach Entmilzung auftretenden schweren
anämischen Zustände. „Perniciöse Anämie der Ratten.“
(Zugleich ein Beitrag zum normalen und pathologischen Blutbild
der Ratte.)**

Von
Dr. E. Lauda.

(Eingegangen am 1. Juli 1925.)

I. Einleitung.

Die Entmilzung wird von Mensch und Tier im allgemeinen ohne Schaden vertragen. Es wurden zwar in genauen Studien von einer Reihe von Forschern an entmilzten Individuen kleine Abweichungen von der Norm hinsichtlich des Blutbildes, des Eisen- und des Wasserstoffwechsels, der Gallenfarbstoffbildung, des Verhaltens und der Ansprechbarkeit des Knochenmarkes usw. gefunden, doch haben sich diese Abweichungen von der Norm niemals als krankmachend erwiesen. Auf die Lebensfähigkeit, das Wachstum und auf den subjektiven Befund hat die Milz-entfernung im allgemeinen keinen Einfluß. Schon *Plinius* hat für den Hund diese Feststellung gemacht. *Tizzoni* und *Dastre* haben keinen Unterschied in der Entwicklung jugendlicher entmilzter und nicht entmilzter Tiere finden können und eine Nachprüfung dieser Versuche durch *Asher* und *Grossenbacher*, welche einen 9 und einen 23 Tage alten Hund entmilzten und die Entwicklung dieser Tiere durch lange Zeit beobachteten, konnte diesen Befund nur bestätigen. Das gleiche fanden *Vogel* und *Sollberger* beim Kaninchen, *Kurloff* beim Meerschweinchen. Auch vom Menschen wissen wir, daß er die Exstirpation der normalen Milz schadlos verträgt, wie die Publikation von Fällen beweist, in welchen die Splenektomie wegen traumatischer Berstung der normalen Milz (*Audibert* und *Vallette* u. a.) oder wegen ausgedehnter Verwachsungen der normalen Milz mit einem zu exstirpierenden Tumor (*Noguchi*) durchgeführt wurde. Auch der angeborene Milzmangel (*Sternberg*) spricht in diesem Sinne.

Um so mehr muß es auffallen, daß von einigen Untersuchern sowohl in der älteren wie in der neueren Literatur darauf hingewiesen wird, daß die Ratte die Splenektomie schlecht verträgt. Es scheint dies zwar

keine Regel zu sein, denn *Asher* und *Takahashi* beobachteten an ihren Ratten nach der Splenektomie ein normales Verhalten, und auch die Versuchstiere von *Paschkis* überstanden die Entmilzung, ohne schwere Erscheinungen zu zeigen, wie mir aus einer persönlichen Mitteilung bekannt ist¹⁾. *Streuli* dagegen sah seine Ratten die Entmilzung nicht länger als 10 Tage überleben, und auch *Lepehne* machte trotz aller aseptischen Vorsichtsmaßregeln während der Operation, trotz Einschränkung oder sogar Fortlassens der Äthernarkose anläßlich seiner Studien über den Eisenstoffwechsel splenektomierter Ratten ähnliche Beobachtungen. Wie aus seinen Versuchsniederschriften ersichtlich ist, starben unter 19 splenektomierten Tieren 10. Sie gingen durchschnittlich am 2. bis 11. Tage nach der Entmilzung ein, nur 2 Tiere verendeten erst am 22. bzw. 33. Tage. Diese beiden Ratten waren eisenreich gefütterte Tiere, welche nach den Angaben *Lepehnnes* den Eingriff im allgemeinen besser vertragen; aber auch von weiteren 9 eisenreich gefütterten Tieren starb eines von selbst nach 11 Tagen, alle übrigen wurden zwischen dem 2. und dem 6. Tage zwecks histologischer Untersuchung der Organe getötet, so daß der Schluß *Lepehnnes*, daß eisenreich gefütterte Tiere die Entmilzung leichter überleben, doch nicht ausreichend gestützt erscheint. Es scheint mir, daß sichere Anhaltspunkte für diese Annahme aus seinen Protokollen nicht gewonnen werden können. Die Frage nach der Ursache, warum ein so hoher Prozentsatz von Tieren nach der Entmilzung eingeht, hat *Lepehne* nicht beantwortet. Bei der Mehrzahl der Ratten konnte eine besondere Todesursache nicht festgestellt werden. Es sei nur vermerkt, daß *Lepehne* am 4. Tage nach der Splenektomie an den Nieren histologisch die Zeichen von Hämoglobinurie und von Eisenausscheidung beobachtete. Spektroskopisch konnte er im Harn dieser Tiere Hämoglobin nachweisen. Ob nur die nach der Splenektomie erkrankenden und zugrunde gehenden Ratten oder ob auch die Tiere, welche die Splenektomie anscheinend ohne Schaden überleben, diese Hämoglobinurie und Eisenausscheidung durch die Nieren zeigen, ob diese Erscheinungen also nur von der Entfernung der Milz an sich oder von der auf sie folgenden Erkrankung der Tiere abhängig ist, geht aus der Veröffentlichung *Lepehnnes* nicht hervor.

Ähnliche Erfahrungen wie *Lepehne* machte *Danoff*, welcher an Ratten die Sauerstoffempfindlichkeit nach Splenektomie untersuchte. Die Ratten gingen nach dem Eingriff in großer Anzahl unter rascher Abmagerung zugrunde. Dieser Autor war erst geneigt, dies darauf zurückzuführen, daß die Tiere an der Laparotomiewunde nagten und daß sie zu wenig warmgehalten wurden. Aber auch trotz entsprechender Schutzverbände,

¹⁾ *Nachtrag bei der Korrektur:* Inzwischen hat auch *Paschkis* bei Ratten nach Splenektomie schwere Krankheitszustände gesehen. Sitz d. V. d. pathol. Anat. Wiens vom 27. April 1925.

trotz günstigen Wundverlaufes, trotz entsprechender Wartung und Wärme starben die meisten Tiere nach 9 oder 10 Tagen, selbst jene Tiere, die die ersten Tage nach der Splenektomie keinerlei Krankheitszeichen gezeigt und den operativen Eingriff an sich also anscheinend gut überstanden hatten. Die Tiere waren oft bis kurz vor dem Tode munter. Ebensowenig wie *Lepehne* konnte *Danoff* autoptisch eine Todesursache finden.

Während die genannten Forscher sich mehr oder minder mit der Feststellung begnügten, daß Ratten die Entmilzung schlecht vertragen, hat jüngst *Domagk* anläßlich seiner Studien „Über das Auftreten von Endothelien im Blut nach Splenektomie“ das nach der Splenektomie bei Ratten auftretende Krankheitsbild zu analysieren versucht, und er ist hier zu Feststellungen gelangt, welche geeignet waren, das rätselhafte Umkommen der Ratten verständlicher erscheinen zu lassen. *Domagk* fand, daß die Ratten wenige Tage nach dem Eingriff eine manchmal hochgradige Anämie zeigen, welche sich besonders durch das Auftreten zahlreicher kernhaltiger roter Blutkörperchen kundgibt; er hat zwar die Schwere der Anämie durch entsprechende Zählungen zahlenmäßig nicht bestimmt, er gibt aber in seinen Protokollen an, daß das Blut einer Ratte 5 Tage nach der Splenektomie eine schwere Anämie mit Anisocytose und Polychromasie aufwies, daß das Blut dünn und gelblich war und daß es auch nach Stauung nur abnorm spärlich floß. Dieser Forscher legte dem Auftreten von Erythrophagen im strömenden Blute große Bedeutung bei, einem Befunde, der ja der Gegenstand seines besonderen Studiums war. Die Äthernarkose beeinflußt nach *Domagk* das Bild insofern, als nach dieser eine stärkere Erythrophagocytose im strömenden Blute und eine schwerere Anämie beobachtet wird, als sie bei den ohne Narkose operierten Ratten gesehen wurde. Ebenso wie *Lepehne* beobachtet auch *Domagk* an einem Tier eine dunkelrote Färbung des Harnes. Ein Teil der Ratten erholt sich von der Anämie wieder vollständig, ein anderer Teil aber geht in den ersten Tagen nach der Splenektomie oft plötzlich zugrunde. Ob diese schwere, zum Tode führende Erkrankung verhältnismäßig häufig oder selten zu beobachten ist, geht aus der Darstellung *Domagks* wohl nicht hervor, da er nur an einem kleinen Material (7 Tieren) gearbeitet hat. Bei der Obduktion der nach der Milzentfernung verstorbenen Ratten wird bis auf eine ungewöhnlich große Menge dunkelgrüner Galle im Darm nichts Wesentliches vermerkt. Histologisch wurden eine Wucherung des retikulo-endothelialen Systems, eine Erythrophagocytose und eine Phagocytose von weißen Blutzellen in diesem, eine Abschilferung der Endothelzellen mit folgender Verstopfung der Capillaren, embolischer Gefäßverschluß kleinstter Gefäße durch derartige Zellen, ferner Eisenspeicherung in der Leber und in einem Fall kleine Leberzellennekrosen nach-

gewiesen. *Domagk* vermag für die Pathogenese dieser Rattenkrankheit und für den ursächlichen Zusammenhang der verschiedenen Symptome eine sichere Erklärung nicht zu geben. Da ich nach Besprechung meiner eigenen Befunde an splenektomierten Ratten auf eine genauere Kritik dieser Erklärungsversuche noch werde eingehen müssen, will ich mich vorläufig mit diesem kurzen Auszug der Arbeit *Domags* begnügen.

Es sei schließlich noch kurz erwähnt, daß auch *Hirschfeld* und *Sumi* Milzextirpationen an Ratten vorgenommen haben. Auch sie fanden im strömenden Blut Erythrophagocytose, sie erwähnen aber nichts von schweren Schädigungen, die sie an Ratten nach Splenektomie beobachtet hätten.

Ich machte anlässlich von Studien an entmilzten Ratten die gleiche Beobachtung wie die früher zitierten Autoren, daß eine große Anzahl von Tieren die Entmilzung nur um wenige Tage überlebt, und ich stellte mir die Aufgabe, diesen auffallenden Befund zu klären. Im folgenden will ich über die Ergebnisse meiner dahin zielenden Untersuchungen berichten.

II. Technik der Entmilzung. Das an entmilzten Ratten beobachtete Krankheitsbild. Statistik der Erkrankungen.

Es seien einige kurze Bemerkungen über die Technik der Splenektomie vorausgeschickt. Die Operation wurde mit wenigen Ausnahmen in Äthernarkose ausgeführt. Die Äthernarkose wird von den Tieren gut vertragen. Nach Rasieren, Desinfektion und steriler Abdeckung des Operationsfeldes wurde die Bauchhöhle durch einen etwa 1—1,5 cm langen Schnitt eröffnet. Der Schnitt wurde meist durch den linken M. rectus abdominis knapp unterhalb des Rippenbogens schräg nach links unten und außen geführt, wobei das Tier auf dem Rücken liegend am Operationstisch fixiert war. Ausnahmsweise wurde in der mittleren Axillarlinie senkrecht auf den Rippenbogen eingegangen, wobei das Tier auf der rechten Seite lag. Diese Schnittführung hat zwar den Vorteil, daß man direkt auf die Milz zu einschneidet und die Bauchhöhle nur durch einen kleinen, etwa 6 mm langen Spalt eröffnet werden muß, um die Milz vor die Bauchdecken zu luxieren, sie hat jedoch den Nachteil, daß die Bauchdecken in Seitenlage des Tieres nicht gespannt sind und die Naht der Laparotomiewunde größere Schwierigkeiten bereitet. Die Schnittführung nahe der Mittellinie, in Rückenlage des Tieres, hat den Nachteil, daß man meist den Magen vorziehen muß, um zur Milz zu gelangen, sie hat aber den Vorteil, daß die Laparotomiewunde wegen der Spannung der Bauchdecken exakter geschlossen werden kann. Wird bei dieser Methode der Magen vorgelagert, so hat man darauf zu achten, daß sich das Omentum minus nicht zu sehr spanne, da sonst eine übermäßige Stauung in den Magengefäßen mit parenchymatösen Blutungen der Magenschleimhaut auftreten kann. Im allgemeinen habe ich die Schnittführung nahe der Mittellinie bevorzugt. Der Stiel der vorgelagerten Milz wird mit einer Ligatur unterbunden und hierauf distal durchschnitten und der Stumpf des Ligamentum gastrolionale in die Tiefe versenkt. Die Bauchdecken werden in zweifacher Schichte genäht, die Laparotomiewunde jodierte. Die Anlegung irgendeines Verbandes hat sich als nicht notwendig erwiesen. Die Bauchwunde verheilt im allgemeinen binnen wenigen Tagen per primam, nur selten kommt es zu leichter Eiterung der einen oder anderen Hautnaht.

Ich habe in meinen Versuchen weiße Ratten verwendet, die zum Teil aus der Zucht der Klinik, zum Teil aus fünf anderen Bezugsquellen, Wiener Tierhändlern, stammen. Es handelt sich um verschieden große, verschieden alte Tiere. Die Tiere wurden, sofern es in den Versuchsniederschriften nicht ausdrücklich anders vermerkt ist, mit Semmeln gefüttert; sie wurden in größeren Glasbehältern mit verzinkten Eisendrahtdeckeln gehalten. Als Streu diente Holzwolle. Spontanerkrankungen wurden unter den Tieren nicht beobachtet, mit wenigen Ausnahmen; es handelte sich hier um räudige Tiere, welche aus den Versuchen ausgeschlossen wurden.

Die Ratten vertragen die Operation an sich gut. Die Tiere verhalten sich zwar am Tage des Eingriffes meist ruhig, häufig sind sie aber auch unmittelbar nach der Operation, insbesondere nach nur oberflächlicher Narkose, munter. Die ersten Tage nach dem Eingriff scheinen sie im allgemeinen gesund und ein Teil der Tiere bleibt es auch dauernd; ein anderer Teil dagegen zeigt bald früher, bald später Krankheitserscheinungen. Die Tiere beginnen abzumagern, werden auffallend ruhig, sie wehren sich kaum, wenn sie angefaßt werden, und sie verlieren die Freßlust; ihr Fell wird meist struppig. Bei genauerer Beobachtung kann man bemerken, daß die roten Bulbi der albinotischen Ratte eine abnorme Blässe zeigen; gelegentlich wird eine leichte, manchmal hämorragische Conjunctivitis mit teilweiser borkiger Verklebung der Lider bemerkt. Die Abmagerung kann binnen wenigen Tagen einen hohen Grad erreichen; ich habe Wägungen der Tiere zwar nicht vorgenommen, doch schätze ich den Gewichtsverlust auf ungefähr ein Viertel des Körpergewichts. Mit zunehmendem Kräfteverfall zeigen die Ratten eine immer mehr zunehmende Atemnot; während bei gesunden Tieren etwa durchschnittlich 50—80 Atemzüge in der Minute gezählt werden, beobachtet man jetzt bis zu 150. Nach etwa zweitägiger Dauer der Krankheit, oft früher, stellt sich nicht selten neben den genannten Symptomen auch eine Hämaturie bzw. Hämaglobinurie ein. Der Harn wird bald licht-, bald dunkelrot, mit dem Spektroskop sieht man die charakteristischen Oxyhämoglobin-Absorptionsstreifen. Im Harn wird mikroskopisch reichlich amorphes, rotbraunes, anscheinend vom Hämoglobin herrührendes Sediment gefunden, seltener finden sich Hämoglobinzyylinder oder auch geschädigte Erythrocyten. Wenn die Tiere nicht spontan Harn lassen, so erkennt man die Hämoglobinurie (Hämaturie) an einer blutigen Verfärbung der äußeren Genitalgegend. Die Tiere, die sich in diesem schweren Krankheitszustand meist nicht mehr von der Stelle röhren, verunreinigen sich mit Harn, den sie unter sich lassen. Unter all diesen Symptomen, in deren Vordergrund die Abmagerung, die Blässe und bisweilen die Atemnot und der hämorragisch verfärbte Harn stehen, gehen die Tiere binnen kurzem ein. Tiere, die einmal Hämoglobinurie zeigen, sterben meist innerhalb von Stunden. Der Krankheitsablauf kann ein viel stürmischerer sein als wie eben be-

schrieben. Die Tiere verenden oft schon nach eintägiger Krankheitsdauer, gelegentlich findet man Tiere, die am Abend vorher noch munter und anscheinend gesund waren, am Morgen tot im Käfig. Die Krankheit geht nicht immer tödlich aus. Die Ratten können sich auch wieder langsam erholen, sie beginnen nach mehreren Tagen wieder normal zu fressen, sie nehmen an Gewicht zu, und nach etwa 2 Wochen kann auch die genaue Beobachtung der Tiere hinsichtlich ihres Verhaltens, Freßlust, Munterkeit usw. keinerlei krankhafte Symptome mehr bemerken. Ob die Tiere zu Beginn der Krankheit fiebern, kann ich nicht sagen, weil ich Temperaturmessungen nicht vorgenommen habe. Mehrere Stunden vor dem Tode wird häufig eine abnormale Unterkühlung der Tiere festgestellt.

Die Obduktion der eingegangenen Tiere lässt nur geringe makroskopisch sichtbare Veränderungen an den Organen erkennen, die den Tod der Tiere anscheinend nicht zu erklären vermögen.

Die Leber zeigt meist folgende Veränderung: Sie ist meist wesentlich vergrößert, ihre Konsistenz ist vermindert, sie ist weich und brüchig. Am meisten fällt die Veränderung der Farbe auf. Während die Leber gesunder Tiere eine dunkelrote Farbe aufweist, zeigt die Leber der unter Krankheitszeichen verendeten Tiere meist eine gelbliche Farbe. Die Gelbfärbung ist oft nicht eine diffuse, sondern eine fleckige, zwischen den mehr gelben unregelmäßig konturierten, bis kleinsten stecknadelkopf-großen Teilen finden sich blaßrötliche Gewebsabschnitte. Ebenso wie die Leber scheinen die übrigen Organe anämisch zu sein, vor allem die Nieren, die einen blaßroten Farbton aufweisen. Bestand eine Hämaturie, so können die Nieren dunkelschwarzrot verfärbt sein, seltener ist ihre Oberfläche von einer großen Anzahl feiner punktförmiger Blutungsherde bedeckt. Der Blasenharn ist hämorragisch, sofern im Leben Hämaturie (bzw. Hämoglobinurie) bestand. Es wird schließlich anscheinend konstant ein stark gallig verfärbter Dünndarminhalt gefunden; der Dickdarminhalt zeigt keine besonderen Veränderungen. Die Lungen sind anämisch; hin und wieder finden sich kleine punktförmige Blutungen. Das Knochenmark der langen Röhrenknochen ist rot, es sei aber hier hervorgehoben, daß im allgemeinen das Knochenmark gesunder Tiere nicht anders gefärbt ist. Wenn die Tiere mehrere Tage lang krank waren, fällt nicht selten eine leichte Gelbfärbung sämtlicher Organe auf, die insbesondere bei Betrachtung der zurückgezogenen und umgeschlagenen Bauchdecken leicht erkannt wird und anscheinend nicht nur durch die ungewöhnliche Blässe, sondern auch durch eine ikterische Verfärbung der Gewebe bedingt ist.

Es sei hervorgehoben, daß die Laparotomiewunde und der Milzamputationsstumpf im allgemeinen keine Reaktion zeigen, man findet zwar nicht selten leichte Verklebungen des Netzes oder des Milzstieles mit der vorderen Bauchwand oder

Tabelle 1.

Fortlaufende Nr.	Ratte Nr.	Erkrankt und				Ohne Krankheitserscheinungen Beobachtungsdauer	Erkrankt und				
		Krankheits- dauer	getötet oder eingegangen	erholt			Krankheits- dauer	getötet oder eingegangen	erholt		
				Tod nach Splen- ektomie	Krankheits- dauer beginn nach Splenektom.				Tod nach Splen- ektomie	Krankheits- dauer beginn nach Splenektom.	
		in Tagen							in Tagen		
1	1	1—2	7			38	69	1	4		
2	3	2	7			39	70	—	—	11	
3	5	2—3	8			40	71	1	4	4	
4	6			6	6	41	72	7	17		
5	7			9	7	42	73	1	4*		
6	11			9	2	43	75	2	5*		
7	14				25	44	76	—	—	21	
8	15				10	45	77	1—2	4	3	
9	16				75	46	78	1	8		
10	17				25	47	79	1	3		
11	22			20	7	48	80	7	10		
12	23	1	7			49	81	1	6		
13	27	1	5*			50	82	1	5		
14	28	1—2	6			51	83	1—2	30		
15	31	—	—			52	84	2	6		
16	32	1	3*			53	85	1	4		
17	35	1—2	5			54	88	1	3		
18	36				60	55	89	1	3		
19	37				60	56	90	2	4		
20	39				18	57	91	1—2	18		
21	40				18	58	92	9	23*		
22	41				60	59	93	—	14	5	
23	42	1	5			60	94	6	16		
24	43	—	—			75	61	95	1	3	
25	44	0**	6			62	96	—		50	
26	46	—	—			63	97			30	
27	47	0**	5			64	98			50	
28	50	2	4*			65	99			60	
29	51	1	3*			66	100			30	
30	52	—	—			67	109				
31	54	1	5			68	110	2	6*		
32	55	1	5			69	111	1	11		
33	59	0**	3			70	112	21	26		
34	60	1	5*			71	114	—	14	5	
35	61	1	8			72	115	1	5		
36	64	1	4*			73	116	2—3	7*		
37	66	1	6								

* heißt: getötet; ** heißt: morgens tot gefunden.

mit der Unterfläche der Leber, irgendeine schwerere entzündliche Reaktion wird aber vermißt. Eine Peritonitis konnte nie nachgewiesen werden; nur einmal fand sich ein kleiner abgesackter Eiterherd zwischen Magen und Leber.

Über die Häufigkeit der Erkrankung der Ratten nach Milzexstirpation, über die Dauer dieser Krankheit und über den Zeitpunkt des Todes nach der Splenektomie, ebenso wie über die Anzahl der Tiere, die auch erkrankten, die sich aber nach einiger Zeit wieder erholten, über die Dauer und den Zeitpunkt des Auftretens der Krankheit nach der Splenektomie und schließlich über die Anzahl derjenigen Tiere, welche die Splenektomie anscheinend symptomlos vertrugen, gibt vorherstehende Tabelle Aufschluß.

Auf der voranstehenden Tabelle, in welche 2 entmilzte Tiere, die am 1. Tage nach der Splenektomie anscheinend an den unmittelbaren Folgen der Operation eingingen, nicht einbezogen wurden, geht also Folgendes hervor: Von 73 Ratten erkrankten nach der Entmilzung insgesamt 55 Tiere unter den beschriebenen Symptomen, das sind also ungefähr 75%. Von diesen wurden zu weiteren Versuchszwecken 11 im Stadium der schweren Erkrankung getötet. Unter den restlichen 44 finden sich 9, welche erkrankten und sich wieder erholten, 18 überstanden die Operation ohne Schaden, soweit die bloße Beobachtung des Verhaltens der Tiere diesen Schluß erlaubt. Von den 44 Tieren, die erkrankten und nicht getötet wurden, gingen 35 spontan ein.

Berücksichtigen wir in der Tabelle die Gruppe der Ratten, die die Splenektomie nicht überlebten, so sehen wir, daß die Mehrzahl der Tiere zwischen dem 3. und 11. Tage zugrunde geht und daß die Krankheitsdauer in diesen Versuchen zwischen einigen Stunden und 3 Tagen schwankt; meist beträgt sie 1 Tag. Eine Ausnahme macht in dieser Hinsicht R. 80, welche am 3. Tage erkrankt und nach einer Krankheitsdauer von 7 Tagen am 10. Tage nach der Splenektomie eingeht. Besonders auffallend muß es erscheinen, daß 5 Tiere erst lange Zeit nach der Operation eingehen (R. 72, 83, 91, 94, 112 nach 17, 30, 18, 16, 26 Tagen); und ebenso bemerkenswert ist es, daß die Krankheitsdauer in diesen Versuchen in hohem Ausmaße schwankt (1—21 Tage). Jedenfalls geht bei Durchsicht der Tabelle hervor, daß ein Parallelismus zwischen der Krankheitsdauer und der Spanne Zeit, die seit der Operation verflossen ist, in keiner Weise nachgewiesen werden kann. Es ereignet sich also, daß ein Tier lange Zeit nach der Splenektomie keinerlei Erscheinungen zeigt, um dann plötzlich innerhalb von 1—2 Tagen mit den früher beschriebenen Symptomen zugrunde zu gehen; als Beispiel sei R. 83 genannt.

Die zweite Gruppe von Ratten, die sich nach der Splenektomie wieder erholen, ist in meinen Versuchen bald nach der Operation erkrankt (3. bis 5. Tag). Die Dauer der Krankheit und der Rekonvaleszenz beträgt 1—3 Wochen, wobei aber zugegeben werden muß, daß die Fixierung des Zeitpunktes der Genesung naturgemäß bis zu einem gewissen Grade eine willkürliche ist.

Zur dritten Gruppe von 18 Tieren, welche die Splenektomie anscheinend schadlos vertrugen, muß folgendes gesagt werden. Wenn wir auf Grund der früher angeführten Versuche annehmen, daß eine Ratte auch noch 30 Tage nach der Splenektomie erkranken kann, so sind eigentlich nur die Tiere, die mindestens 30 Tage nach der Splenektomie in Beobachtung standen und gesund waren, als Ratten zu betrachten, welche die Splenektomie ohne Schaden vertrugen. Alle übrigen Tiere hätten noch spontan erkranken können. Der Prozentsatz der gesund überlebenden Tiere verringert sich bei dieser Betrachtungsweise beträchtlich¹⁾.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß bei der Mehrzahl der von mir beobachteten Ratten nach der Splenektomie mehr oder minder charakteristische Allgemeinerscheinungen auftreten, welchen die Tiere erliegen können. Ein Teil der Tiere erkrankt und erholt sich. Irgend eine Regel hinsichtlich des Zeitpunktes des Auftretens der Krankheitserscheinungen nach der Splenektomie läßt sich nicht nachweisen, wenngleich insofern eine Gesetzmäßigkeit zu bestehen scheint, daß die große Mehrzahl der Tiere nach annähernd gleicher und verhältnismäßig kurzer Zeit erkranken. Ein geringer Prozentsatz der Tiere übersteht den Eingriff anscheinend ohne Schaden.

III. Blutuntersuchungen.

a) Technik und Blutbild der normalen Ratte.

Um der Pathogenese dieser nach Milzentfernung bei den Ratten auftretenden Erkrankung näherzukommen, war es naheliegend, bei den kranken Tieren den Blutbefund zu erheben. Denn Domagk hatte ja schon, wie oben erwähnt, darauf hingewiesen, daß die splenektomierten Ratten eine oft schwere Anämie zeigten, und das anämische Aussehen der Ratten in meinen Versuchen und der oben geschilderte Obduktionsbefund ließen in dieser Richtung schwere pathologische Erscheinungen erwarten. Tatsächlich konnte der Blutbefund das Vorhandensein einer schweren Anämie bestätigen.

Bevor ich aber auf die Blutbefunde an entmilzten Ratten näher eingehe, möchte ich kurz über die Technik der Blutuntersuchungen an Ratten, über ihre Zuverlässigkeit und über den Blutbefund des normalen Tieres einige Bemerkungen einschalten. Für die Blutuntersuchung kann das Blut entweder aus der Schwanz- oder der Femoralvene des Versuchstieres gewonnen werden, die Gefäße der Ohrmuschel sind zu zart, als daß sie eine genügende Menge Blut liefern würden. Das Blut wird aus der Femoralvene so gewonnen, daß das Gefäß des auf dem Operationstisch am Rücken aufgespannten Tieres nach seiner Präparation in der Schenkelbeuge angeschnitten wird. Es ist dies die verlässlichste Methode für eine Blutuntersuchung, es haftet ihr jedoch der Nachteil an, daß Reihenuntersuchungen, tägliche Vergleiche des Blutbefundes naturgemäß nicht durchgeführt werden können. Man ist in diesem Falle also auf die Schwanzvene angewiesen. Diese

¹⁾ *Nachtrag bei der Korrektur:* Die Beobachtungsdauer von Tieren, welche die Splenektomie ohne Krankheitszeichen überstanden, hat sich inzwischen wesentlich verlängert (bis zu 9 Monaten).

wird durch Stutzen des Schwanzes angeschnitten. Macht man Serienuntersuchungen, so muß man darauf achten, jeweils nur ein möglichst kleines Stück der Schwanzspitze mit einem Scherenschlag zu amputieren. Die Schwanzvene liefert im allgemeinen, wenigstens bei den ersten Versuchen an einem Tier, die gleichen Resultate wie die Femoralvene, sofern man darauf achtet, die Vene nicht allzusehr zu stauen. Es ereignet sich aber nicht selten, daß man ohne Stauung kein Blut austreten sieht, man also doch zur Stauung gezwungen wird, wodurch die Verläßlichkeit der Untersuchung außerordentlich leidet. Umgekehrt kann aber auch ein leichtes Ausstreichen des Schwanzendes Gewebsflüssigkeit des Unterhautzellgewebes austreten und diese mit dem Blutstropfen vermischen lassen, so daß man zu niedrige Werte erhält. Mehrfache hintereinander vorgenommene Kontrolluntersuchungen ließen mich diese Beobachtung, diese Fehlerquellen, häufig demonstrieren. Die Technik der Blutuntersuchung aus der Schwanzvene wird auch noch dadurch verwickelt, daß der Amputationsstumpf nach mehrmaligem Stutzen des Schwanzes eine wenn auch meist aseptische entzündliche Reaktion zeigt, so daß man beim Ausstreichen neben dem Blut auch Exsudatflüssigkeit erhält, worauf ja schon *Klieneberger* und *Carl* hingewiesen haben: die Exsudatbeimengung bedingt eine Erniedrigung der Erythrocyten und eine Erhöhung der Leukozytenzahl. Alle diese Fehlerquellen können aber bei ihrer Kenntnis und bei einiger Übung bis zu einem gewissen Grade berücksichtigt und damit ausgeschaltet werden. Durch eine entsprechend leichte Stauung, durch ein Abquetschen des entzündlich gereizten Amputationsstumpfes vor der Blutgewinnung und durch mehrfache Vergleichszählungen hintereinander kann man doch Werte erhalten, die den wahren Verhältnissen entsprechen, wie mich mehrfache vergleichende Untersuchungen zwischen Schwanz- und Femoralvene überzeugt haben. Schließlich sei noch erwähnt, daß es in seltenen Fällen meist bei schwerkranken Tieren und nach oft-maligem Stutzen des Schwanzes zu Thrombosierungen in der Vene kommen kann; in einem derartigen Fall können naturgemäß verlässliche Resultate nicht mehr erwartet werden.

Die Erythrocytenzahl der normalen Ratte beträgt nach *Klieneberger* und *Carl* im Durchschnitt 9300000. Die Schwankungen der Erythrocytenzahlen bei verschiedenen Tieren sollen nach Angabe dieser Untersucher sehr gering sein, eigene Erfahrungen decken sich damit aber nicht. Ich habe an einem ziemlich großen Material Untersuchungen an Normalratten angestellt und habe wohl auch Werte bis über 9 Millionen erhalten, meist aber lagen die Zahlen tiefer. Ich will mich mit dieser Feststellung begnügen und will aus meinen Protokollen einen Mittelwert für das Normaltier nicht konstruieren, weil es mir scheint, daß ein derartiger Mittelwert vielfach zu Fehlschlüssen führen kann. Nimmt man ein Tier in den Versuch, so muß man vorher, wenn möglich durch mehrfache Zählungen, die Erythrocytenzahl bestimmen, und diese Zahl hat für diesen Versuch als Normalzahl zu gelten. Ganz abgesehen von einer Ratte, die allem Anschein nach eine spontane Anämie von etwas über 4 Millionen aufwies und von der sie sich wieder erholte, habe ich nicht selten Ratten mit einer für sie anscheinend normalen Zahl von 6 Millionen getroffen. Die Tiere waren allem Anschein nach gesund, sie befanden sich in einem ausgezeichneten Ernährungszustand, und sie hielten diese Erythrocytenzahl, sofern nicht ein entsprechender Eingriff gemacht wurde, dauernd fest. Es muß wohl darauf hingewiesen werden, daß die Erythrocytenwerte der Ratte beim gleichen Tier innerhalb weniger Tage Schwankungen unterworfen sein können, wie Kontrolluntersuchungen an einem Normaltier mit entsprechender Berücksichtigung der Fehlerquellen der Technik beweisen. Die spontanen Unterschiede an verschiedenen Tagen könnten durch Verschiebungen der Erythrocyten im peripheren Blut, speziell der Schwanzvene, erklärt werden. Diese Schwankungen

einerseits, die Fehlermöglichkeiten in der Technik der Blutzählung andererseits sind die Ursache, warum bei täglichen Blutuntersuchungen aus der Schwanzvene verschiedene Werte gefunden werden können. Schwankungen um 1 Million werden häufig vermerkt, und es ist daher der einmalige Befund einer Verminderung oder einer Erhöhung der Erythrocytenzahl um 1 Million nicht verwertbar. Unterschiede in diesem Ausmaße dürfen erst dann und wohl auch dann nur mit einer gewissen Zurückhaltung verwertet werden, wenn die Kurve der Erythrocytenzahlen durch längere Zeit ein höheres oder niedrigeres Niveau einnimmt. In der vorliegenden Arbeit spielen aber diese Schwankungen deshalb keine besondere Rolle, da das beobachtete als pathologisch aufgefaßte Fallen und Steigen der Zahlen meist mehrere Millionen beträgt. Bei vergleichenden Zählungen der roten Blutkörperchen ist schließlich noch folgendem Umstand Rechnung zu tragen: Bei gehäuften, evtl. täglichen Blutuntersuchungen mit Coupieren des Schwanzendes sinkt die Zahl der Erythrocyten gelegentlich nicht unwesentlich; durch die fortgesetzten, wenn auch kleinen, aber für die kleinen Tiere verhältnismäßig vielleicht doch bedeutenden Blutverluste kommt es zu einer leichten Anämie. Ihr Auftreten scheint hauptsächlich davon abzuhängen, ob die gesetzte Wunde stark oder wenig blutet, und ob sie durch längere Zeit nachblutet. Im allgemeinen stellt sich in diesen Fällen die Erythrocytenzahl nach einem langsam anfänglichen Sinken auf ein konstantes Niveau ein, wie die folgenden Beispiele, die meinem Protokolle entnommen sind, zeigen.

R. 20	17. VII.	8 092 000	R. 21	17. V.	7 890 000
	18. VII.	7 440 000		19. V.	7 665 000
	21. VII.	6 325 000		21. V.	6 415 000
	24. VII.	6 345 000		24. V.	6 745 000
	27. VII.	6 400 000		25. V.	6 710 000

Die Zählungen in diesen 2 Fällen haben Anspruch auf ziemliche Genauigkeit, da die täglich gefundenen Zahlen Mittelwerte von einer Reihe (bis zu 5) Zählungen darstellen, die auch untereinander keine wesentlichen Unterschiede zeigten. Es sei aber betont, daß dieses Absinken der Erythrocytenzahlen durch die Blutuntersuchung allein meiner Erfahrung nach nie hohe Grade erreicht und daß die Blutkörperchenzahl in vielen Fällen konstant bleibt.

Sämtliche Zählungen wurden in meinen Versuchen mit der gleichen Mischpipette und in einer Bürker-Kammer vorgenommen. Bei Massenuntersuchungen ist die Bürker-Kammer der Thoma-Zeiß-Kammer vorzuziehen. Sie gibt zwar weniger verlässliche absolute Werte; dies spielt aber im gegebenen Fall, wo es sich meist um den Vergleich verschiedener Zählungen handelt, keine Rolle.

Nach *Klieneberger* und *Carl* zeigen die Erythrocyten der normalen Ratte morphologisch mäßige Anisocytose. Es findet sich ferner regelmäßig Polychromasie. Das Verhältnis von polychromatischen Erythrocyten zu normal gefärbten ist großen Schwankungen unterworfen. Nach den genannten Autoren beträgt das Verhältnis 1 : 18. Ich glaube, daß man ebenso wie bei den Erythrocyten im gegebenen Fall die Prozentzahl der polychromatischen Erythrocyten feststellen muß, ehe man das Tier in den Versuch nimmt, wenn man Schwankungen in dieser Hinsicht in irgendeiner Weise deuten will. Normoblasten finden sich im allgemeinen im Normalblut der Ratte nur in geringer Zahl, gelegentlich fehlen sie vollständig. Blutplättchen sind nur in geringer Anzahl vorhanden; meist liegen sie zu Haufen.

Die Normalzahl der weißen Blutkörperchen schwankt außerordentlich. Ich fand beim Normaltier zwischen 5000 und 21 000 Leukocyten. *Klieneberger* und *Carl* nehmen als Mittelwert 15 200 und heben hervor, daß in der absoluten Zahl der Leukocyten ohne ersichtlichen Grund bei verschiedenen Individuen Schwankungen bis zu 100% vorkommen. Es ist klar, daß auch für die Zahl der weißen Blutkörperchen die gleichen Fehlerquellen, wie sie oben für die Erythrocyten

angeführt wurden, Berücksichtigung finden müssen. Da für die vorliegende Arbeit das morphologische Verhalten der einzelnen Elemente des weißen Blutbildes der Ratte von untergeordneter Bedeutung ist, möchte ich dieses nur kurz streifen und verweise hinsichtlich der Einzelheiten auf die Ausführungen der mehrfach zitierten Autoren *Klieneberger* und *Carl*. Ebenso wie beim Menschen findet man im weißen Blutbilde bei der Ratte dreierlei Gebilde: Granulocyten, Lymphocyten und mononukleäre Zellen. Das Verhalten der Granulocyten bietet in morphologischer Hinsicht nichts Besonderes. Es sei nur hervorgehoben, daß die eosinophilen Zellen häufig einen ringförmigen Kern zeigen. Was die Lymphocyten und Monocyten anlangt, so sind sie im Normalblut voneinander im allgemeinen leicht zu unterscheiden; die Lymphocyten sind durch einen kugeligen, meist dichten pyknotischen Kern und durch einen kleinen Protoplasmasaum, die Monocyten durch ihre Größe, den lockeren Kern und durch das leicht basische Protoplasma charakterisiert. Man trifft aber schon im Normalblut häufig Formen, deren Aussehen eine sichere Unterscheidung zwischen Lymphocyten und Monocyten nicht gestattet; sie werden in den späteren Differentialzählungen als „fragliche mononukleäre Elemente“ rubriziert. Ich habe zwischen großen und kleinen Lymphocyten nicht unterschieden, sondern ich habe diese Zellen bei meinen Zählungen zusammengefaßt. Meine, wenn auch nicht sehr ausgedehnten Erfahrungen über den Prozentsatz der einzelnen Formen im weißen Blutbild decken sich annähernd mit den von *Klieneberger* und *Carl* angeführten Zahlen. Diese finden:

Große und kleine Lymphocyten	Neutrophile und polynukleäre	Eosinophile	Mononukleäre und Übergangsformen
78 %	16 %	3,5 %	2,5 %

Ebenso wie die Zahlen der roten und weißen Zellen bei den verschiedenen Ratten ziemlich großen Schwankungen unterworfen sind, findet man bei den verschiedenen Individuen auch Abweichungen hinsichtlich des prozentuellen Verhaltens der einzelnen weißen Blutzellen zueinander. Ich habe insbesondere bei den Leukozyten und Lymphocyten starke Abweichungen von den oben als Norm angeführten Zahlen gefunden, z. B.: R. 96 Lymphocyten 64%, Neutrophile 27%; R. 97 Lymphocyten 42%, Neutrophile 47,9%. Zahlen wie die letztgenannten finden sich aber bei Normaltieren außerordentlich selten, und es kann daher als Regel gelten, daß die normale Ratte eine ausgesprochene Lymphocytose zeigt. Unter Hinblick auf die erwähnten Schwankungen wird es naturgemäß notwendig sein, auch das Differential-Leukozytenblutbild vor Beginn eines Versuches zu bestimmen, wenn man aus dem weißen Blutbild Schlüsse irgendwelcher Art ziehen will.

b) Blutbild der kranken, entmilzten Ratte.

Bei einer großen Anzahl von entmilzten Tieren nun wurden schwere Veränderungen im Blutbild festgestellt, welche sowohl die Gesamtzahl der roten und weißen Zellen als auch die Morphologie sämtlicher Blutbestandteile betrafen. Unter diesen pathologischen Veränderungen war das Absinken der Gesamtzahl der Erythrocyten die in die Augen springendste. In der folgenden Tabelle sind die bei den einzelnen Tieren gewonnenen Erythrocytenkurven übersichtlich dargestellt. Es sei bemerkt, daß nur solche Tiere in die Tabelle aufgenommen sind, bei welchen fortlaufende Erythrocytenzählungen vorgenommen wurden; bei einer Reihe von Tieren, die in dieser Tabelle nicht erscheinen und auf die ich noch später zurückkommen werde, wurde die bestehende

Anämie lediglich aus der makroskopischen Beschaffenheit des Blutes und aus der Morphologie des Blutbildes erschlossen.

Aus dieser Tabelle ist also ersichtlich, daß sich bei der Mehrzahl der Ratten wenige Tage nach der Entmilzung eine schwere Anämie entwickelt. Sie ist meist zwischen dem 3. und 8. Tage nach der Operation nachzuweisen, die Erythrocytenzahl sinkt im allgemeinen auf 2 bis 1 Million und darunter. Der Erythrocytensturz vollzieht sich im allgemeinen außerordentlich rasch, die Anämie ist innerhalb 1—2 Tagen voll entwickelt. Es sei auf R. 3, 5, 50, 83 usw. hingewiesen. Gelegentlich findet man noch an einem Tage die Normalzahl, am nächsten Tage bereits eine wesentliche Verminderung (z. B. R. 82). Eine kleine Gruppe von Tieren läßt eine Anämie aber vollständig vermissen. Wenn auch häufig unmittelbar nach der Operation kleine Schwankungen in der Erythrocytenzahl, die wohl auf den Blutverlust während der Operation zurückzuführen sind, beobachtet werden, so halten sich die Zahlen dieser Tiere in der Folgezeit doch auf annähernd gleicher Höhe (R. 14, 98, 99). Einige Tiere standen monatelang in Beobachtung, ohne daß eine schwere Anämie hätte nachgewiesen werden können. Die dauernde leichte Senkung der Zahl ist bei diesen Tieren wohl auf die fortgesetzten Blutverluste bei den Blutuntersuchungen zu beziehen. Ich muß hier betonen, daß Blutproben häufiger, als es in der Tabelle vermerkt wurde, genommen wurden, daß aber meist nur Ausstriche zum Studium und zur Kontrolle der Blutmorphologie angefertigt wurden. Eine große Zahl von Ratten, bei denen die schwere Anämie akut einsetzt, geht am gleichen oder am folgenden Tage zugrunde, wie aus der Tabelle ersichtlich ist; andere Tiere, wie R. 76, 93 usw., erholen sich wieder, wobei die Erythrocytenzahl durch einige Tage auf dem ungewöhnlich tiefen Wert stehen bleibt, um dann allmählich innerhalb von 2—4 Wochen zur Norm anzusteigen. Die vor der Operation festgestellte Ausgangszahl wird hierbei häufig nicht ganz erreicht, ein Verhalten, welches aber vielleicht nicht auf die überstandene Anämie, sondern auf die dauernden kleinen Blutentziehungen durch die Blutkontrollen zu erklären ist. Bei wenigen Tieren bleibt die Zahl der Erythrocyten durch verhältnismäßig lange Zeit sehr niedrig, wie bei R. 76, bei welcher die Anämie am dritten Tage nach der Splenektomie mit einem Sturz auf 3,1 Millionen einsetzte, und bei welcher noch nach ungefähr einem Monat 2,2 Millionen gezählt wurde. Ein etwas atypisches Verhalten zeigt R. 72: es entwickelte sich nach der Splenektomie innerhalb von 3 Tagen eine Anämie von 1,5 Millionen, die Zahl steigt dann wieder auf 3,1 Millionen, um nach weiteren 5 Tagen vor dem Tode neuerlich auf 1,2 Millionen zu fallen. In wenigen Ausnahmen tritt der Erythrocytensturz erst spät ein. So weist z. B. R. 83 bis zum 25. Tage nach der Splenektomie normale oder etwas verminderte Zahlen auf, am 29. Tage wird plötzlich der abnorme Tiefstand von 3,1 Millionen

Tabelle 2.

	Nummer der Ratte																				
	8	5	6	7	11	14	17	22	23	27	32	50	51	60	64	69	70	72	73	75	76
	Erythrocytenzahl in Millionen																				
	8,9	9,2	8,1	10,7	9,1	10,4	9,7	—	—	8,1	6,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
1.	—	—	—	—	—	7,2	8,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
2.	—	—	—	—	—	5,0	—	—	—	—	—	6,5	—	—	—	—	—	—	—	—	
3.	6,1	9,3	7,4	9,7	3,2	6,7	—	—	—	—	0,9†	1,5†	2,7†	—	—	0,9	1,1	1,5	—	3,1	
4.	—	9,2	7,1	—	—	7,3	—	—	—	—	—	—	—	—	1,4†	†	—	0,6†	—	1,0	
5.	6,5	—	—	11,4	3,6	8,5	—	—	—	1,2†	—	—	—	—	1,3†	—	—	—	0,7†	—	
6.	2,1†	3,2	3,4	—	—	7,1	—	—	—	(ge-tötet)	—	—	—	—	—	—	—	1,4	2,0	—	
7.	—	4,4†	1,5	6,7	—	7,9	—	2,4	1,8†	(ge-tötet)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,4	
8.	—	—	—	3,0	6,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
9.	—	—	—	2,7	—	—	6,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,5	3,1	—	—	
10.	—	—	—	3,6	—	—	6,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
11.	—	—	—	—	—	—	—	2,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
12.	—	—	—	—	3,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
13.	—	—	—	—	—	5,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
14.	—	—	—	—	—	—	6,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
15.	—	—	—	6,4	—	8,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
16.	—	—	—	—	—	—	—	5,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
17.	—	—	—	6,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
19.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,4	
21.	—	—	—	—	—	7,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
22.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
23.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
24.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
25.	—	—	—	—	—	—	—	8,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
26.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
29.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
30.	—	—	—	—	—	—	8,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
31.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
38.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
39.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
46.	—	—	—	—	7,6	—	—	8,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
53.	—	—	—	—	—	8,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
67.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
75.	—	—	—	—	—	—	—	—	6,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6,5	
120.	—	—	—	—	—	—	—	—	7,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Erythrocytenzahl in Millionen nach der Splenektomie am

Tabelle 2.

vermerkt. Ähnliches gilt für R. 92, bei welcher am 10. Tage Normalzahlen gezählt wurden, und bei welcher innerhalb von 14 Tagen ein verhältnismäßig langsames Absinken auf 700 000 zu verzeichnen ist. Diese spät einsetzenden Blutkrisen sind außerordentlich auffallend, weil sie aus dem Rahmen der bei den meisten Ratten beobachteten Gesetzmäßigkeit, die durch einen reißenden Erythrocytensturz wenige Tage nach der Splenektomie gekennzeichnet ist, herausfallen.

Ich habe mich mehrmals davon überzeugt, daß die abnorm niederen Erythrocytenzahlen im Schwanzvenenblut nicht auf Verschiebungen im peripheren Blut, Thrombosierung der Schwanzvene usw. zurückgeführt werden können, sondern daß diese niederen Zahlen der Ausdruck einer echten schweren Anämie sind; der Vergleich der Erythrocytenwerte im Schwanzvenen- und Femoralvenenblut kann dies beweisen:

R. 23 (7 Tg. nach der Splenektomie) Schwanzvene: (1,9—1,7, durchschn.) 1,6 Mill.
Femoralvene: (1,6—2,3, durchschn.) 1,95 Mill.

R. 27 (5 Tg. nach der Splenektomie) Schwanzvene: 1,2 Mill.
Femoralvene: 1,2 Mill.

Die schwere Anämie tritt als Symptom der im vorangehenden Abschnitt behandelten Allgemeinerscheinungen auf. Ich habe schon erwähnt, daß die erkrankten Tiere auffallend blaß aussehen, und daß nicht nur die Augen die auffallende Blässe zeigen, sondern daß auch die sichtbaren Schleimhäute und die Haut der Pfötchen ungewöhnlich anämisch erscheinen. Der aus der Schwanzvene ausfließende Blutstropfen ist abnorm dünn, wässrig und fleischfarben. Die Viscosität des Blutes ist abnorm gering; beim Aufziehen des Blutes in die Mischpipette wird dies leicht erkannt. Läßt man Blut in einem Röhrchen gerinnen und absetzen, so tritt der Untersuchungsmangel zwischen Blutvolumen und Erythrocytenzahl in dem Verhältnis der großen Menge des Serums zur geringen Masse des Blutkuchens auffallend zutage. Als wichtiger Befund sei schließlich noch folgender hervorgehoben: In einer Reihe von Fällen beobachtet man eine Hämoglobinämie. Entnimmt man unter allen Vorsichtsmaßregeln, um mechanische Schädigungen der Erythrocyten bei der Blutentnahme zu vermeiden, Blut aus der Femoralvene oder durch Ausbluten des Tieres aus der Bauchaorta und läßt es gerinnen, so erweist sich das Serum in den Fällen der schweren Anämie häufig als hämolytisch. Hämoglobinämische Tiere zeigen meist eine Hämoglobinurie (Hämaturie), hämoglobinurische Tiere meist, wenn auch nicht regelmäßig, Hämoglobinämie. Auf die Deutung dieser Verhältnisse werde ich später zurückkommen.

In wenigen Fällen, z. B. bei R. 96, fiel auf, daß nach der Entmilzung vorübergehend eine Polyglobulie auftrat. Die Ausgangszahl von 7 Millionen vor dem Eingriff erhebt sich am 12. Tage nach diesem auf 8,2 Millionen, um dann längere Zeit um etwas über 7 Millionen zu schwanken und später endlich wieder auf die Normalzahl zu sinken. Ob es sich hier wirklich um eine Polycythaemie nach Ausfall

der Milzfunktion, nach Ausfall eines Teiles des Apparates, der normalerweise Erythrocyten zerstört, handelt, oder ob es sich hier um eine abnorme Eindickung des Blutes durch ungewöhnliche Wasserverluste nach der Splenektomie (siehe unten) oder aber um Eindickung des Blutes wegen zu geringer Flüssigkeitsaufnahme handelt, auf diese Fragen will ich nicht näher eingehen, wie ich ja auch die Frage einer eventuellen vorübergehenden leichten Polycythaemie in den ersten Stunden oder Tagen nach der Splenektomie, wie sie von anderen Untersuchern an Hunden beobachtet wurde, in meinen Versuchen nicht untersucht habe.

Aus dem Vergleich der Tab. 1 und 2 geht hervor, daß die Allgemeinerscheinungen der Tiere meist kürzere Zeit anhalten, als die Anämie nachweisbar ist. Die bei bloßer Betrachtung der Tiere nachweisbare Krankheit dauert ja meist nur Tage, während meist Wochen verstreichen, bis die Normalzahl der Erythrocyten wieder erreicht ist.

Auch das morphologische Blutbild zeigt gleichzeitig mit dem Auftreten der Anämie schwere pathologische Veränderungen. In der Zählkammer fällt schon bei schwacher Vergrößerung eine deutliche Anisocytose auf, es finden sich Mikrocyten und Megalocyten. Im allgemeinen herrscht die Megalocytose vor, wenngleich sie auch nicht immer gleich stark ausgeprägt ist. Im Stadium der schweren Anämie ist sie regelmäßig nachzuweisen. Vergleichende Messungen von Erythrocyten eines normalen und eines pathologischen Blutes ergaben durchschnittlich einen Unterschied von 1μ . Neben der Anisocytose besteht, wenn auch meist nicht so stark ausgesprochen, eine Poikilocytose. Die polychromatischen roten Blutkörperchen sind stark vermehrt, nicht selten sieht man fast ausnahmslos derartige Formen. Ich habe zum Studium der Blutmorphologie im allgemeinen Ausstriche benutzt, welche nach der Angabe von *Schilling* mit Brillantkresylviolett vital vorgefärbt und nach Fixation mit Methylalkohol mit Giemsa-Farbstoff nachgefärbt worden waren. Statt der Polychromasie zeigen die polychromatischen Erythrocyten in derartig gefärbten Präparaten die durch die Vitalfärbung ausgefällte und nun mit Giemsa blau gefärbte Substantia granulofilamentosa, wodurch sie bedeutend mehr auffallen. Man erhält mit dieser Methode außerordentlich eindrucksvolle Bilder; nicht selten sind alle Erythrocyten eines Gesichtsfeldes vital gefärbt. Hinsichtlich der Form und Anordnung der Granula und Fäden der vital gefärbten Erythrocyten konnten irgendwelche für die Ratte kennzeichnenden Besonderheiten nicht beachtet werden.

Es sei hinsichtlich der Technik der Darstellung der vital färbaren Substanz nebenbei eingeschaltet, daß das Gelingen der Färbung zum Teil vom Farbstoff, zum Teil von der Art des Streichens des Präparates abhängt. Ich habe die meines Wissens andernorts nicht erwähnte Beobachtung gemacht, daß eine frisch bereitete alkoholische Brillantkresylviolettlösung die sichersten Ergebnisse liefert, und daß mit zunehmendem Altern der Lösung etwa im Laufe von 5—7 Wochen die Darstellung der Substantia granulofilamentosa immer unsicherer gelingt. Trocknet der Blutaussstrich auf dem mit Farbstoff beschickten Objektträger allzurasch ein, so tritt die Vitalfärbung entweder nur in einer beschränkten Anzahl von Blut-

körperchen, meist nur in bestimmten Bezirken des Präparates oder überhaupt nicht auf. Der Gerinnungsprozeß, dem die Vitalfärbung ja zugrunde zu liegen scheint, kann wegen der Kürze der Zeit nicht ablaufen, und es ist daher zweckmäßig, den an seiner Kante mit dem Bluttropfen beschickten Objektträger, der schräg auf den zu streichenden Objektträger aufgesetzt wird, vor dem endgültigen Ausstreichen so lange leicht zu bewegen, bis der Bluttropfen sich mit dem gelösten Farbstoff blau gefärbt hat. Es sei aber hervorgehoben, daß auch trotz dieses Kunstgriffes die Färbung nicht immer gelingt, so daß nur die Durchsicht von mehreren Ausstrichen von dem Fehlen oder spärlichen Vorhandensein von vital gefärbten Erythrocyten überzeugen kann.

Im anämischen Blut finden sich ferner in ziemlich großer Zahl kernhaltige rote Blutkörperchen vom Typus der orthochromatischen oder polychromatischen Normoblasten. In seltenen Fällen sieht man noch jüngere Zellformen mit leicht basischem Protoplasma und lockerem Kern. Megaloblasten werden nicht gefunden. Im allgemeinen werden im Stadium der schweren Anämie etwa 10% kernhaltige Erythrocyten nachgewiesen. Nur selten zeigen sie sich in sehr großer Anzahl. Es sei betont, daß die Vermehrung der kernhaltigen Erythrocyten mit dem Grade der Anämie nicht unbedingt Hand in Hand geht. Verhältnismäßig selten findet man Jolly-Körperchen.

Die Blutplättchen sind allem Anschein nach oft wesentlich vermehrt. Genaue Plättchenzählungen sind nicht durchführbar, weil die Plättchen fast ausnahmslos in dichten Haufen beisammen liegen und das Einzelement nicht unterschieden werden kann.

Hämoglobinbestimmungen stoßen bei der Ratte auf oft nicht unerhebliche Schwierigkeiten, sofern man vergleichende Untersuchungen an mehreren Tagen beim gleichen Tier vornehmen will. Im allgemeinen gelingt es nicht, aus der Schwanzvene genügend Blut zu erhalten, um eine Hämoglobinbestimmung nach *Sahli* vornehmen zu können. Es wurde daher die Tallquiistsche Hämoglobinskala bevorzugt. Die Ergebnisse erscheinen, auch bei Anwendung beider Methoden, nicht sehr verlässlich, insbesondere bei höheren Graden der Anämie ist das Ablesen des Resultates außerordentlich unsicher und subjektiv. Ich habe den Eindruck gewonnen, daß der Färbeindex annähernd 1, vielleicht häufig etwas über 1 beträgt.

Gleichzeitig mit dem Absinken der Zahl der Erythrocyten steigt die Zahl der Leukocyten wesentlich an, es wurden im Stadium der Anämie bis zu 50 000 Zellen gezählt. Der Anstieg ist nicht regelmäßig ein derart hoher, nicht selten tritt nur eine Vermehrung um die Hälfte oder das Doppelte der Ausgangszahl ein, die Vermehrung an sich aber ist die Regel. Häufig wird schon 1—2 Tage vor dem Erythrocytensturz ein Ansteigen der Leukocytenzahl beobachtet, eine Erscheinung, die bis zu einem gewissen Grade als Vorläufer der kommenden Anämie angesprochen werden kann. Die Leukocytose geht mit einer schweren Veränderung des Differential-Leukocytenblutbildes einher: Es kommt

zu einer starken Neutrophilie und zur Ausschwemmung pathologischer mononukleärer Zellen.

Während, wie oben kurz angedeutet, der normale Monocyt durch einen im allgemeinen runden, seltener leicht gebuchten Kern und einen gleichmäßigen, leicht basisch gefärbten, annähernd homogenes Protoplasma gekennzeichnet ist, treten nun Formen auf, deren Kerne zwar keine wesentliche Abweichung von der Norm, vielleicht eine etwas stärkere Buchung und eine unregelmäßige Gestalt, deren Zellleib aber die Zeichen schwerer Degeneration oder der Reizung erkennen lassen. Das Protoplasma färbt sich bei Giemsa-Färbung entweder diffus dunkelblau oder aber in manchen Anteilen mehr, in anderen weniger stark, oder es ist stark vakuolisiert. Es finden sich bald kleinere, bald größere, bald vereinzelte, bald zahlreiche Vakuolen. Daneben wird in diesen Zellen auch Erythrophagocytose beobachtet. Diese ist im Stadium der Anämie keine regelmäßige Erscheinung, unter 42 morphologisch genau durchsuchten Fällen konnte sie nur 22 mal, also ungefähr in der Hälfte der Fälle gefunden werden. Die Erythrophagen unterscheiden sich, wenn wir von der Phagocytose der Erythrocyten absehen, morphologisch in keiner Weise von den degenerierten Monocyten. Sie beherbergen bald nur einen, bald eine große Anzahl von Erythrocyten, in welchem Falle der Kern an die Peripherie verschoben und das Protoplasma mit Erythrocyten vollgepropft erscheint. Die phagocytierten Erythrocyten färben sich nach der Giemsa-Methode im allgemeinen mit einem grünlichen Farbton, gelegentlich erscheinen sie auch ungewöhnlich blaß, so daß man manchmal im Zweifel sein kann, ob man eine Vakuole oder einen Erythrocyten vor sich hat; sie sind meist etwas kleiner als die Erythrocyten des strömenden Blutes, und sie färben sich mit dem Vitalfarbstoff nicht. Die phagocytierten Erythrocyten buchten den Kern häufig ein, sie liegen dann in einer Nische des Kernes. Während in den einzelnen Präparaten Erythrophagen nur nach langem Suchen vereinzelt gefunden werden, sind sie in anderen wieder häufig zu finden; die beobachtete Höchstzahl beträgt 3% der Leukocyten. Sie werden im allgemeinen nur im Stadium der schweren Anämie, und zwar nur vorübergehend gefunden; bei der Durchmusterung von Ausstrichen, die nach der Entmilzung täglich oder jeden zweiten Tag angefertigt wurden, waren sie meist nur an einem Tage, und zwar in allen Ausstrichen gefunden, während sie vor und nachher vermißt wurden. Nur das Einsetzen der Anämie, nicht die Zeit, die seit der Splenektomie verflossen ist, ist für das Auftreten der Erythrophagen maßgebend: Bei R. 83 z. B. waren sie nur an einem einzigen Tage, nach ungefähr einem Monat, als die Erythrocytenzahl von 7 Millionen auf 1,3 Millionen abgefallen war, nachweisbar. Nur in 3 Fällen wurden Erythrophagen an mehreren Tagen beobachtet. Bei R. 72 waren sie am 4. Tag nach der Milzentfer-

nung zu sehen, als die Erythrocytenzahl auf 1,5 Millionen abfiel, und 10 Tage später, als die unterdessen bei allgemeiner Erholung des Tieres wieder auf 3 Millionen angestiegenen Erythrocyten auf 1,2 Millionen gesunken waren. R. 80 und R. 92 hatten am 3. und 7. bzw. am 14. und 23. Tage nach der Splenektomie Erythrophagen im strömenden Blut; in beiden Fällen war gleichzeitig die Erythrocytenzahl weiter gesunken. Es scheint also, daß das Auftreten der Erythrophagen im strömenden Blut an den Zeitpunkt der Erythrocytensturzes gebunden ist. Neben den Erythrophagen wurde in einem einzigen Fall Phagocytose von Blutplättchen in Monocyten gesehen. Phagocytose von Leukocyten durch Monocyten wurde ebensowenig wie Erythrophagocytose polymorphekerniger Leukocyten beobachtet.

Das Differential-Leukocytenblutbild zur Zeit der Anämie soll an drei Beispielen an der Hand folgender Tab. 3 demonstriert werden.

Tabelle 3.

Nr. der Ratte	Datum	Lympho- cyten	Fragliche Zellen *)	Mono- cyten**)	Polynukleäre		
					Neutrophile	Eosinophile	Basophile
3	30. V.	73,5%	--	6%	17%	3%	0,5%
				Splenektomie			
	2. VI.	54%	--	6%	34%	6%	--
	4. VI.	27%	2%	11%	55%	5%	--
	5. VII.	12%	--	8%	78%	2%	--
				Anämie am 5. VII.			
5***)	7. VI.	50%	--	10%	38%	2%	--
		10,500	--	2,100	7,900	414	--
				Splenektomie			
	13. VI.	19%	2%	16%	60%	3%	--
		9,120	960	7,680	28,000	1,440	--
				Anämie am 13. VI.			
23	21. VII.			Splenektomie			
	28. VII.	37,6%	--	2,2%	59,6%	0,6%	--
				Anämie am 28. VII.			

*) Siehe Seite 540.

**) Erythrophagen einbezogen.

***) Das Tier war zwei Tage, ehe es in den Versuch kam, mit Lithioncarmin gespritzt worden, ein Umstand, der vielleicht die relative Leukocytose am 7. VI. zu Beginn des Versuches erklären kann. Nebenbei sei erwähnt, daß in wenigen derartigen Versuchen carmin-gespeicherte Monocyten im strömenden Blute nicht gefunden werden konnten.

Die auffallendste Veränderung im Differential-Leukocytenblutbild ist jedenfalls die mit der Anämie auftretende relative Neutrophilie. Von der Normalzahl, die durchschnittlich 16% beträgt, steigen die Neutrophilen auf 60 und bis fast 80% an. Wie aus dem zweiten Beispiel ersichtlich ist, ist die absolute Vermehrung der weißen Zellen vorwiegend

auf eine absolute Neutrophilie zu beziehen. Auch die absolute Monozyten- und Eosinophilenzahl ist gestiegen, während die Lymphocytenzahl annähernd gleich hoch geblieben ist. Ich möchte hier nur auf die Feststellung der absoluten und relativen Neutrophilie besonderen Wert legen, möchte aber auf eine genauere Analyse des weißen Blutbildes der anämischen Ratten, ebenso auch wie auf die Besprechung der Veränderungen des Blutes nach Splenektomie in den Fällen, in welchen es zu keiner Anämie kommt und in welchen meiner Erfahrung nach wesentliche Verschiebungen des leukocytären Blutbildes nicht stattfinden, verzichten. Pathologische Leukocytenformen (Myelocyten usw.) habe ich nie gesehen. Auch eine Verschiebung nach links ist mit Sicherheit nicht nachzuweisen. Das Auszählen eines Blutausstriches zur Feststellung der besprochenen Neutrophilie erscheint meist nicht notwendig. Eine flüchtige Durchsicht eines Ausstriches genügt durchaus, und ich konnte mich daher auch ohne Zählungen von der Konstanz des Befundes an Ausstrichen des anämischen Blutes regelmäßig überzeugen.

Schließlich seien noch einige Bemerkungen über die Resistenz der Erythrocyten angeschlossen. Ich habe über die Resistenz der roten Blutkörper im Stadium der Anämie insofern keine sichere Erfahrung, als in meinen spärlichen diesbezüglichen orientierenden Untersuchungen eine Hämoglobinämie bestand. Es konnte daher die obere Grenze, der Beginn der Hämolyse, einwandfrei nicht gefunden werden. Es muß aber als außerordentlich auffallend vermerkt werden, daß die vollständige Hämolyse bei einer sehr hohen Kochsalzkonzentration lag, einmal bei 0,38%, so daß wohl angenommen werden muß, daß die Resistenz der Erythrocyten vermindert ist.

Wenn es für die vorliegende Arbeit auch nicht von Belang ist, möchte ich hier noch über Erythrozytenresistenzwerte bei Ratten, welche 2-3 Monate vorher splenektomiert und diese ohne Zeichen von Allgemeinerscheinungen überstanden hatten, berichten und diese mit den bei Normaltieren gefundenen Werten vergleichen.

Entmilzte Tiere.		Beginnende Lyse.	Vollständige Lyse.
1.	vor 2 Mon. entmilzt . . .	40	18
2.	" 2 " " . . .	38	18
3.	" 2 " " . . .	46	22
4.	" 2 " " . . .	41	19
5.	" 3 " " . . .	40	18
durchschnittlich:		<u>41</u>	<u>19</u>
Normaltiere.			
1.		42	28
2.		40	24
3.		44	18
4.		<u>42</u>	<u>22</u>
durchschnittlich:		<u>42</u>	<u>23</u>

Die Aufstellung zeigt, daß 2—3 Monate vorher entmilzte und nicht entmilzte Tiere annähernd bei gleicher Kochsalzkonzentration eine beginnende Hämolysen zeigen. Für die Konzentration, bei welcher vollständige Hämolysen eintritt, scheinen mir diese spärlichen Versuche keine sicheren Anhaltspunkte zu geben; bei den

Normaltieren ist der Unterschied zwischen diesen Werten (28—18) so groß, daß nur eine größere Versuchsreihe einen verlässlichen Mittelwert ergeben könnte. Es darf also aus diesen Versuchen nicht geschlossen werden, daß die entmilzte Ratte einige Monate nach der Operation eine Resistenzänderung der Erythrocyten zeigt.

Entsprechend dem bei bloßer Betrachtung der Tiere mit großer Wahrscheinlichkeit erhobenen Befund einer ikterischen Verfärbung der Gewebe konnte bei einer Reihe von Tieren eine positive Diazoreaktion im Serum nachgewiesen werden. Sowohl die direkte wie die indirekte Probe nach *Hijmans van der Bergh* fiel bei diesen Tieren positiv aus, die direkte deutlicher wie die indirekte. Der Nachweis des Bilirubins im Serum gelingt bei den anämischen Ratten nicht regelmäßig. Das Serum gesunder, nicht entmilzter Tiere und entmilzter, nicht anämischer Tiere gibt, wie ich mich oft überzeugen konnte, keine Diazoreaktion.

Es läßt sich also hinsichtlich der Veränderungen des peripheren Blutes entmilzter Ratten zusammenfassend folgendes feststellen: *Bei einer großen Anzahl von Tieren kommt es meist nach wenigen Tagen, manchmal aber erst nach Wochen plötzlich zu einer schweren Anämie mit rasendem Absinken der Normalzahl der Erythrocyten auf 2 bis 1 Million und darunter. Diese Anämie ist durch eine Anisocytose mit Mikrocytose und Megalocytose, durch eine starke Polychromasie bzw. durch das Auftreten zahlreicher vital färbbarer Erythrocyten und durch die Ausschwemmung einer großen Anzahl kernhaltiger roter Blutkörperchen (Normoblasten), seltener durch das Auftreten von Jolly-Körperchen morphologisch charakterisiert. Der Färbeindex beträgt 1 oder etwas über 1. Es finden sich also im erythrocytären Blutbild die Zeichen des perniziös-anämischen Blutbildes. Gleichzeitig mit der Anämie kommt es zu einer hochgradig absoluten und relativen Neutrophilie ohne Ausschwemmung von pathologischen Granulocytenformen und zu einer relativen und absoluten Monocytose. Die Monocyten zeigen meist Degenerationszeichen. Etwa die Hälfte der Tiere zeigt Erythrophagocytose im strömenden Blute. Die Blutplättchen sind meist vermehrt.*

Ein kleinerer Teil der Ratten zeigt nach der Entmilzung dauernd ein normales Blutbild.

IV. Literatur über die bei Tier und Mensch nach Entmilzung auftretende Veränderung des Blutbildes.

Diskussion der eigenen und fremden Befunde bei der Ratte.

Sowohl die ältere als auch die neuere Literatur hat sich mit dem Studium der Blutveränderung nach Milzextirpation an Mensch und Tier beschäftigt; die mitgeteilten Resultate sind aber nicht einheitlich. Bei der kurzen Besprechung der einschlägigen Literatur soll nur auf Arbeiten eingegangen werden, welche sich mit der der Splenektomie folgenden Blutveränderung beschäftigen, während die Arbeiten, welche sich mit der Bedeutung der Milz bei der Blutregeneration nach Vergiftung mit Blutgiften (*Silvestri, Paton und Goodall, Krumbhaar, Muir* und

Pearce usw.), nach großen und kleinen Blutentziehungen (*Asher* und *Sollberger*) beschäftigen, nicht erörtert werden sollen. *Pouchet* konnte in Versuchen an Tauben, Katzen usw. an den geformten Bestandteilen des Blutes nach Splenektomie keine Veränderung nachweisen. *Tizzoni* und *Filetti*, die das Auftreten von Anämie mit Hämoglobinbestimmungen beurteilten, sahen unmittelbar nach der Milzentfernung eine in zwei Schüben auftretende Erhöhung des Hämoglobingehaltes des Blutes, welche aber innerhalb von 1—2 Tagen zur Norm zurückkehrte. Ebenso fand *Winogradow* erst eine kurz dauernde, nicht regelmäßig auftretende Zunahme und eine darauf folgende Verminderung der Erythrocytenzahl. Gegenteilige Angaben finden wir bei *Tizzoni* und *Filetti* bezüglich der Wirkung der Splenektomie bei alten Hunden, ferner *Bizzozero* und *Salvioli*, die eine vorübergehende Abnahme des Hämoglobins und dann eine Rückkehr zur Norm feststellten, ferner bei *Maggiorani*, bei *Grigorescu*, der eine erhebliche Verminderung der Erythrocytenzahl nachweisen konnte, bei *Tauber*, *Cesas*, *Glarus* und *Vulpus*, Autoren, die an den verschiedensten Tieren, Hunden, Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen usw., arbeiteten. *Grigorescu* glaubte nachweisen zu können, daß milzlose Tiere während der Verdauung eine Verminderung der Erythrocytenzahl gegenüber der Norm aufwiesen, ein Befund, der ihm sogar die Annahme machen ließ, daß rote Blutkörperchen sich während der Verdauung in weiße verwandeln. Der Grad der beobachteten Verminderung oder Erhöhung der Erythrocyten- bzw. Hämoglobinwerte ist — und dies erscheint für unsere Betrachtung wichtig — bei allen diesen Autoren ein sehr geringer.

Während die genannten Untersucher mit einer mangelhaften Technik arbeiteten, die Tiergattung, das Alter und den Ernährungszustand der Tiere, das Vorhandensein von Nebenmilzen, die Zeit der Blutentnahme und den Blutverlust während der Operation nicht berücksichtigen, erhob *Gabbi* bei Beachtung aller dieser Umstände und mit einer feineren Technik den Befund, daß die Splenektomie bei Meerschweinchen eine wohl schon nach Wochen oder Monaten schwindende Zunahme der Erythrocyten- und Hämoglobinwerte bedingt, und daß die Splenektomie beim Kaninchen dagegen den Blutbefund unbeeinflußt läßt. Er erklärt diese Beobachtungen mit der Annahme, daß der Milz des Meerschweinchens eine besonders starke hämolytische Wirkung zukommt. *Laudenbach* stellte dagegen am Hund ein vorübergehendes Absinken der Erythrocyten- und Hämoglobin-zahlen nach Entmilzung fest, welche bei einem Hunde bis zum 62. Tag nach der Splenektomie anhielt. In genauen Untersuchungen an Hunden und Kaninchen konnten *Paton* und *Goodall* eine Zunahme der Erythrocyten- und der Hämoglobinwerte nicht finden; sie stellten fest, daß der hämopoetische Apparat des entmilzten Tieres sich auch bei künstlicher Hämolysen ebenso verhält wie der milzhaltiger Tiere. Nur bei künstlicher Anämisierung eisenarm ernährter, entmilzter Tiere trat die Anämie früher auf als bei Kontrolltieren, was nach Angabe der Autoren darauf zurückzuführen ist, daß die Milz als Eisendepot fungiert, und daß dem Organismus nach dessen Entfernung nicht genügend Eisen zur Neubildung roter Blutzellen zur Verfügung steht. Auch *Paton*, *Gulland* und *Fowler* konnten eine anämisierende Wirkung der Splenektomie nicht nachweisen.

In außerordentlich sorgfältigen Untersuchungen hat *Freytag* an einem großen Kaninchenmaterial anscheinend verlässliche Resultate erhalten; er fand unmittelbar nach der Milzentfernung eine Vermehrung der roten Blutkörperchen, welcher am 2. bis 3. Tag nach der Operation eine Verminderung folgt. Nach 8—10 Tagen kehrt die Zahl wieder zur Norm zurück. Der genannte Autor bezieht die vorübergehende Erhöhung auf einen Ausfall der Blutkörperchen zerstörenden Funktion der Milz, die folgende Verminderung auf einen Mangel jener Bestandteile im Organismus, die für den Aufbau der Blutkörperchen notwendig sind, vor allem des Eisens, und für die die Milz ein Depot dargestellt hat. Wenn die Blutkörperchenzahl

zur Norm zurückkehrt, erhält das Blut das zum Neuaufbau notwendige Eisen von der Leber. *Musser* und *Krumbhaar* fanden in Untersuchungen an Hunden, daß unmittelbar nach der Entmilzung eine Blutarmut auftritt, welche ihren Höhepunkt am 30. bis 45. Tag erreicht und langsam zurückgeht; die Erythrocytenzahl ist nach 3—4 Monaten zur Norm zurückgekehrt. Die Autoren betonen in einer späteren Mitteilung, daß es Ausnahmen von dieser Regel gäbe; ein Hund zeigte noch nach einem Monat keine Verminderung, bei einem anderen Tier hielt die Anämie durch Monate an. *Pearce* und *Peet* kamen zu ähnlichen Ergebnissen. *Asher* und *Sollberger* arbeiteten an Kaninchen. Im Gegensatz zu den früher genannten Forschern wiesen sie nach, daß die Milzextirpation zu einer geringen Erhöhung des Hämoglobins und der Erythrocytenzahl führt, ein Verhalten, daß sie mit einer Abnahme der Hämolyse nach dem Ausfall der Erythrocyten zerstörenden Milz erklären. *Eppinger* faßt seine Erfahrungen an Hunden dahin zusammen, daß die Splenektomie auf das Verhalten der Erythrocyten und des Hämoglobinwertes nur einen ganz geringen Einfluß ausübt. Ähnlich wie *Freytag* sah auch er nur innerhalb der ersten 2 bis 3 Stunden ein leichtes Absinken der Erythrocytenzahl; später waren Werte zu beobachten, welche von der Norm nicht wesentlich abwichen. Dagegen sah *Port* die Zahl der Erythrocyten und Leukocyten beim Kaninchen durch die Entmilzung unbeeinflußt, und *Dubois* stellte bei eisenreich gefütterten Kaninchen eine vorübergehende Erhöhung des Hämoglobinwertes und der Erythrocytenzahlen fest. Dieser Autor glaubt, daß ein direkter Reiz auf das Knochenmark angenommen werden muß, da dauernd unreife Formen roter Blutkörperchen in den Kreislauf abgegeben werden. Milz und Schilddrüse sind nach diesem Autor hinsichtlich ihrer Wirkung auf den hämatopoetischen Apparat Antagonisten: die Schilddrüse wirke erregend, die Milz hemmend. Ausfall der Milzfunktion bedinge ein Überwiegen der erregenden Wirkung der Schilddrüse. Vor kurzem hat *Ponticaccia* in einer ausführlichen Arbeit, in der auch die Literatur übersichtlich dargestellt ist, seine Erfahrungen an splenektomierten Kaninchen mitgeteilt. Er gelangt u. a. zu folgenden Resultaten: 1. Im Anschluß an die Splenektomie kommt es zu einer leichten Polycythaemie, welche von einer leichten Wochen und Monate anhaltenden Anämie gefolgt ist. 2. Gleichzeitig finden sich die Zeichen einer Knochenmarksreizung mit Ausschwemmung von Normoblasten, Jolly-Körperchen, polychromatischen und vital färbbaren Erythrocyten, Makro- und Mikrocyten, Zeichen, welche sich auch mehr oder weniger deutlich in der folgenden Periode der Anämie finden. 3. Im Laufe dieser Anämie vermehren sich die vital färbbaren und basophilen Erythrocyten um ein bedeutendes. 4. Der Hämoglobininhalt erhöht sich mit der Polycythaemie und fällt mit der Anämie. 5. Die weißen Blutkörperchen vermehren sich vorübergehend gleichzeitig mit den Erythrocyten. 6. Die Blutplättchen vermehren sich in beträchtlichem Maße und halten sich lange Zeit nach der Operation auf dieser erhöhten Zahl. Die übrigen von *Ponticaccia* gefundenen Resultate sind in diesem Zusammenhange von keiner Bedeutung. Über die Wirkung der Splenektomie auf die Erythrocytenzahlen und auf den Hämoglobinwert beim Menschen wissen wir nichts Sichereres. Alle Untersuchungen an Individuen, bei welchen eine kranke Milz extirpiert worden war, können uns hier nicht interessieren, da es sich in diesen Fällen um ganz andere Verhältnisse handelt. Wenn es gestattet ist, aus den Untersuchungen *Kreuters* an Affen einen Rückschluß auf den Menschen zu ziehen, so dürfte die Splenektomie der gesunden Milz ohne wesentlichen Einfluß auf das Blutbild sein. *Kreuter* konnte einen bemerkenswerten Einfluß der Splenektomie auf das periphere Blutbild nicht feststellen. Er hatte übrigens auch Gelegenheit, das Blut eines Menschen 6 Wochen nach Exstirpation einer normalen Milz (traumatische Milzzerreißung) zu untersuchen; er erhob durchaus normale Verhältnisse.

Wenn wir die Angaben der Literatur über die Wirkung der Entmilzung auf das periphere Blutbild bei Tieren überblicken, so sehen wir, daß die Untersucher zu den widersprechendsten Ergebnissen gekommen sind. Nach dem Eingriff wird bald Anämie, bald Polycythämie gefunden. Es soll hier nicht die Frage erörtert werden, wie diese gegensätzlichen Anschauungen in Einklang zu bringen sind, ob Versuchstechnik, Ernährung, Tierart usw. hierfür vielleicht verantwortlich gemacht werden können, es soll nur zusammenfassend konstatiert werden, daß von keinem Untersucher eine erhebliche Verminderung der Erythrocytenzahl gefunden worden ist, in keinem Falle eine Anämie beobachtet werden konnte, die mit der bei der Ratte gesehenen in irgendeine Parallele zu setzen ist. Es handelt sich in allen angeführten Arbeiten, die überhaupt über eine Anämie nach Splenektomie berichten, nur um eine ganz geringgradige Verminderung der Erythrocytenzahlen. Eine Anämie, die sich etwa schon klinisch in einer ungewöhnlichen Blässe der Schleimhäute der Versuchstiere, in einer abnorm dünnflüssigen Beschaffenheit des Blutes und anderem geäußert hätte, wurde als Folge von Milzextirpation niemals festgestellt. Die schwere, meist zum Tod der Versuchstiere führende Erkrankung, der Sturz der Erythrocytenzahlen innerhalb weniger Tage von über 7 auf 1 Million und darunter, die schweren pathologischen Veränderungen des morphologischen Blutbildes und die Hämoglobinämie, wie wir sie bei der Ratte beschrieben haben, finden in der Literatur kein Analogon und stempeln den beobachteten Symptomenkomplex zu einem besonderen.

Es ist kein Zweifel, daß die Anämie das sinnfälligste Symptom dieser nach Entfernung der Milz auftretenden Erkrankung der Ratte darstellt, und ich möchte daher — in Anlehnung an die von der Veterinärmedizin getroffenen Bezeichnung der „perniziösen Anämie der Pferde“ — für das bei der Ratte nach Splenektomie beobachtete klinische und hämatologische Syndrom den Namen „perniziöse Anämie der Ratten“ vorschlagen.

Eine Deutung des Zustandekommens der beobachteten schweren Blutveränderung, eine Deutung der Frage, welcher Mechanismus bei der Zerstörung der Erythrocyten im Spiele ist, welche Organe hierbei eine Rolle spielen, und wohin denn die roten Blutkörperchen aus der Zirkulation verschwinden, kann erst versucht werden, nachdem die histologischen Veränderungen, die sich an den Organen der anämischen Ratten nachweisen lassen, geschildert sind. Vor deren Besprechung sollen aber noch folgende Überlegungen Platz finden: Wenn wir an der Lehre festhalten, daß die polychromatischen bzw. vitalfarbbaren Erythrocyten junge, neugebildete Blutelemente darstellen, und daß auch die Megalocyten Knochenmarksbestandteile sind, welche nicht in der Peripherie aus Normocyten entstehen, sondern bereits als Megalocyten aus dem Knochenmark ausgeschwemmt werden, und wenn wir nun bei

einer Ratte innerhalb von 1—2 Tagen einerseits ein Absinken der Erythrocytenzahlen von der Normalzahl auf 1 Million feststellen und schließlich noch beobachten, daß diese eine Million fast durchwegs aus polychromatischen bzw. vitalfärbbaren Elementen und aus Megalocyten besteht, so haben wir nachgewiesen, daß innerhalb dieser kurzen Frist das ganze vordem in der Zirkulation befindliche Blut bzw. die Gesamtheit der in der Zirkulation befindlichen Erythrocyten zugrunde gegangen ist, wenn wir von den wenigen normal färbbaren und normal großen roten Blutkörperchen absehen, welche wir im Stadium der Anämie im Ausstrich noch finden. Innerhalb von 2 Tagen hat also eine, wenn auch pathologische und mangelhafte, aber doch außerordentlich starke Blutregeneration und eine Auswechslung des normalen Blutes mit den neugebildeten pathologischen Blut stattgefunden. Die Leistungsfähigkeit des Knochenmarkes erscheint bei dieser Betrachtung eine außerordentlich große. Ein Moment nun muß ganz besonders auffallen: das schlagartige Einsetzen des Verschwindens einer so großen Menge roter Blutkörperchen aus dem strömenden Blut. Dieses schlagartige Einsetzen erinnert an die Wirkung eines in die Blutbahn eingespritzten hämolytischen Ambozeptors, welcher in entsprechenden Dosen auch zu einer plötzlichen Zerstörung vieler Erythrocyten führen kann. Eine derartige Hämolsinwirkung darf aber in unserem Falle gewiß, wenigstens nicht ausschließlich, angenommen werden, da wir doch gesehen haben, daß nur in einem Teil der Fälle eine Hämoglobinämie bzw. Hämoglobinurie beobachtet wurde, welche die unbedingte und regelmäßige Folge einer stärkeren intravasalen Hämolyse sein müßte. Die beobachtete Megalocytose erscheint insofern bedeutsam, als sie uns zeigt, daß im Verlaufe einer — wie noch näher auszuführen sein wird — vorwiegend oder ausschließlich hämatoxischen Anämie Megalocyten in großer Zahl im peripheren Blut auftreten können. Die alte *Ehrlichsche* Auffassung, daß die Megalocytose auf einen Umschlag der Blutbildung in den embryonalen Typus zurückzuführen wäre, daß also die Megalocytose nicht einfach als ein regeneratorisches Symptom der Blutbildung angesehen werden dürfe, scheint mir durch diesen Befund neuerlich wesentlich entkräftet. Es ist wohl nicht gut vorstellbar, daß das Knochenmark mit einem Schlag andersartige, dem normalen Knochenmark fremde Zellen bilde, es ist viel näherliegend anzunehmen, daß die Megalocyten normale junge Vorstufen in der Entwicklung der Erythrocyten darstellen und als solche bei einem ungewöhnlichen Reiz auf das Knochenmark in die Blutbahn abgegeben werden. Der an den Ratten erhobene Befund fügt sich ungezwungen der von den meisten Forschern vertretenen Ansicht ein. *Brugsch* und *Pappenheim* sagen: „Immerhin ist das Auftreten von Megaloblasten im Knochenmark und demnächst im Blut wohl nicht als essentieller Umschlag in eine ganz andere Art von Blut-

bildung zu deuten. Es dürfte sich nicht um ein essentielles und qualitatives Neuauftreten einer ganz abgearteten und heterogenen Form der Blutbildung handeln, sondern nur um vermehrte Bildung tief stehender, unreifer Zellen, die sonst bestimmt sind, sich in normale Blutzellen umzuwandeln.“

Ebensowenig wie das von uns an entmilzten und anämischen Ratten beobachtete erythrocytäre Blutbild in der Literatur ein Analogon findet, ebensowenig kann das bei den Ratten erhobene leukocytäre Blutbild mit irgendwelchen Literaturangaben über das weiße Blutbild nach Splenektomie in Parallele gesetzt werden.

Ganz abgesehen davon, daß bei anderen Tieren entweder überhaupt keine Veränderung oder nur ganz geringe Schwankungen der absoluten Leukocytenzahl gefunden wurden (ausführliche Übersicht über die einschlägige Literatur bei *Ponticaccia*), wurden bisher nach Entmilzung meist Veränderungen im Sinne einer Lymphocytose verzeichnet. *Kurloff* fand in anscheinend sehr verlässlichen Untersuchungen bei Meerschweinchen nach Splenektomie eine Lymphocytose, welche im Verlaufe des ersten Jahres nach der Operation regelmäßig auftritt und als charakteristisches Merkmal für das Fehlen der Milz angenommen werden kann; er bezieht diese Vermehrung der Leukocyten auf eine Hypertrophie und Hyperplasie der Lymphknoten, welche den Ausfall der Milzfunktion auszugleichen suchen. Er betont, daß die Knochenmarkszellen und die Monocyten im ersten Jahre nicht die mindeste Schwankung zeigen. *Regling* und *Klunka* sahen nach der Exstirpation der Milz eine Abnahme der Lymphocytenzahlen, die sich aber mit der Zeit ausgleicht, und die sogar dauernd in eine Lymphocytose übergeht. *Dubois* fand, daß die Splenektomie die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen nicht verändert, daß sie aber zunächst eine Abnahme der Lymphocytzahl mit einer entsprechenden Zunahme der Knochenmarkelemente verursacht. Die Erscheinung wird als Schädigung des lymphatischen Apparates und als Reizung des leukopoetischen Systems gedeutet. Es entwickelt sich wohl später eine Lymphocytose, ein Vorgang, der als „Hyperkompensation“ aufgefaßt wird. *Ponticuccia* fand an Kaninchen gleichzeitig mit der anfänglichen Polyglobulie eine leichte Neutrophilie mit gleichzeitiger Verminderung der Eosinophilen, welche mit der später auftretenden Anämie in eine starke Neutrophilie und Monocyto- und Lymphopenie umschlägt. Nach mehreren Monaten fand sich eine Eosinophilie. Diese Späteosinophilie wird auch von *Ehrlich* behauptet, und *Audibert* und *Valette* beobachteten an einem jungen Menschen, der wegen Zerreißung der Milz splenektomiert wurde, bereits am 4. Tage nach der Operation eine Eosinophilie von 23%, die nach Monaten wieder verschwand. Auch *Noguchi* berichtet über das Blutbild nach Splenektomie einer gesunden Milz des Menschen. Er hatte erst 10 Monate nach der Splenektomie Gelegenheit, den Patienten zum ersten Male zu untersuchen. Er fand eine Zunahme der Lymphocyten und der Eosinophilen und eine Abnahme der Polynucleären. Nach ungefähr 5 Jahren waren die Normalzahlen wieder erreicht.

Es ist wohl klar, daß die in meinen Versuchen an Ratten beobachtete hohe absolute Vermehrung der Leukocytenzahlen und der Umschlag, der bei der Ratte normalen Lymphocytose in eine Neutrophilie bis zu 80% mit den in der Literatur mitgeteilten Befunden bei anderen Tieren und beim Menschen nicht verglichen werden kann. Die meisten dieser

Befunde sind übrigens als Spätfolgen der Splenektomie aufzufassen und sind schon dadurch von der oft schon am 3. oder 4. Tage nach der Splenektomie auftretenden Leukocytose grundsätzlich unterschieden. Vielleicht ließen sich bei fortlaufenden Kontrollen des Differentialleukocytenblutbildes jener Tiere, welche nach der Splenektomie nicht erkrankten, Befunde erheben, welche mit denen in der Literatur verzeichneten in Parallele zu setzen wären.

Wenn wir den Versuch machen, an der Hand der Blutuntersuchungen allein die beschriebene Anämie in irgendeine der bekannten Anämiformen einzuordnen, so müssen wir folgendes sagen: *Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß es sich in unserem Falle um eine hämolytische (hämotoxisch-hämophthische) Anämie handelt*, um eine Blutarmut, die durch eine Zerstörung des in der Zirkulation befindlichen Blutes zustande kommt. Das plötzliche Absinken der Zahl der roten Blutkörperchen und der damit gelegentlich einhergehende Ikterus können nicht anders erklärt werden. Im gleichen Sinne spricht die Hämoglobinämie bzw. Hämoglobinurie. Für die Annahme einer primären myelophthischen Komponente, die gleichzeitig mit der hämolytischen einsetzen würde, finden sich, wie ich glaube, keine sicheren Anhaltspunkte. Es scheint, daß das Knochenmark, wie bei jeder peripheren Blutzerstörung, eine der Schweren der Hämolyse entsprechende ausgleichende Reaktion zeigt und jugendliche rote Zellen, Normoblasten, polychromatische und vitalfärbbare Erythrocyten gleichzeitig mit Leukocyten anschwemmt. Ob die Megalocytose in unserem Falle als myelophthisches Symptom gedeutet werden darf, möchte ich bezweifeln. Es sei diesbezüglich auf das früher Gesagte verwiesen und betont, daß das verhältnismäßig schnelle Zurückkehren des Blutbildes zur Norm bei Tieren, die sich erholen, auf keinen Fall eine schwerere Schädigung des Knochenmarkes annehmen lassen kann. Im übrigen sei nochmals darauf hingewiesen, daß mir die Leistung des Knochenmarkes während der schweren Blutkrise, wie schon gesagt, verwunderlich groß erscheint, so daß ich eine Myelopathie kaum annehmen möchte. Wenn ich sagte, daß das in der Zirkulation befindliche Blut den Angriffspunkt der an zunehmenden Schädlichkeit darstellt, so war damit noch nicht gesagt, ob es sich bei dieser hämotoxischen Anämie um eine intravasale Hämolyse oder um eine Hämolyse in jenen Organen oder Zellen handelt, welche die Fähigkeit haben, Blutkörperchen zu zerstören. Die Blutuntersuchung der anämischen Ratte gibt uns nun auch zur Klärung dieser Frage zwei Hinweise: Die Hämoglobinämie, die auf eine intravasale Hämolyse bezogen werden muß, und die Erythrophagocytose im strömenden Blut, die — falls sie keine sekundäre Erscheinung ist — auf die zweite Möglichkeit hinweist. Überblicken wir das über das Blutbild Gesagte, so müssen wir aber folgendes zugeben: So einfach es ist, aus dem an der anämischen Ratte

erhobenen Blutbefund das Bestehen einer hämotoxisch-hämophthisischen Blutarmut abzuleiten, so schwer erscheint es auf den ersten Blick, die Zusammenhänge zwischen Milzextirpation und der ihr folgenden Anämie zu durchschauen. Denn es erscheint doch a priori paradox, daß nach Entfernung eines Organes, welches normalerweise Blutkörperchen zerstört und sogar die wichtigste Stätte des Blutuntergangs darstellt, in noch höherem Maße Erythrocyten zerstört werden, derart, daß eine oft tödliche Anämie, ja daß sogar ein Ikterus auftritt, der wahrscheinlich, soweit wir aus dem Auftreten der Erythrophagen schließen dürfen, als hämolytischer Ikterus aufzufassen ist.

V. Die histopathologischen Befunde und die Erythrophagocytose.

Ich möchte mich bei der Beschreibung der histopathologischen Veränderungen der Organe der anämischen Ratten kurz fassen, nur das Wesentliche, was zur Klärung der Pathogenese der Krankheit, insbesondere der Anämie, beitragen kann, hervorheben, und ich verweise hinsichtlich der Einzelheiten auf eine in Vorbereitung befindliche Arbeit, die ich gemeinsam mit Haam veröffentlichen werde.

Die schwersten und regelmäßigen histologischen Veränderungen zeigt die Leber. Es ist hier vor allem das retikuloendothiale System, die Kupferschen Sternzellen, welche ein pathologisches Verhalten darbieten; aber auch die Leberzellen selbst zeigen in den meisten Fällen pathologische Veränderungen. Der Grad der Veränderungen ist in den einzelnen Fällen ein durchaus verschiedener, so daß ganz verschiedene Bilder sich ergeben können.

Die Kupferschen Sternzellen, die in Normallebern nur durch den länglichen kompakten, der Capillarwandung anliegenden Kern sichtbar in Erscheinung treten, sind im allgemeinen vergrößert, gebläht und ragen daher weit in das Lumen der Capillaren vor, das sie verengen. Die Zellen stoßen sich häufig ab und scheinen so die Blutwege zwischen den Leberzellbalken vollständig zu verlegen. Es ist ein durchaus regelmäßiger Befund, daß diese Zellen rote Blutkörperchen phagocytieren; man findet bald vereinzelte, bald zahlreiche rote Blutscheiben im Protoplasma dieser Zellen. Es werden aber anscheinend nicht nur rote Blutkörperchen phagocytiert, sondern meist auch kleine oder große tropfenartige Gebilde, welche mit Eosinfärbung den Hämoglobinfarbton annehmen und allem Anscheine nach als Hämoglobintropfen anzusprechen sind, und schließlich braunes Hämosiderinpigment in Form von kleineren oder größeren Körnchen. Phagocytose von weißen Blutkörperchen oder von Plättchen konnte ich mit Sicherheit nicht nachweisen. Die Kerne dieser Kupferschen Zellen scheinen schwere degenerative Veränderungen aufzuweisen: Statt eines kleinen kompakten Kernes findet man in den Erythrophagen meist einen großen geblähten Kern, häufig mit Hyperchromatose, der durch die phagocytierten Erythrocyten vielfach gegen den Rand der Zelle verdrängt und zusammengepreßt und eingebuchtet erscheint, und der auch häufig eine Aufsplitterung in eine größere Anzahl von Chromatinbrocken erkennen läßt. Bei fortschreitender Degeneration färbt sich der Kern nur zum Teil mit basischer Farbe, man erkennt nur vereinzelte unscharf begrenzte Chromatinteilchen, oft färbt sich der Kern überhaupt nicht mehr. Das Protoplasma dieser Zellen ist in dem Stadium, welches mit Wahrscheinlichkeit als Anfangsstadium aufgefaßt werden muß, homogen, später erscheint es meist feinkörnig granuliert, häufig

auch vakuolisiert. Die Zellen sterben schließlich scheinbar ab, worauf Bilder hinweisen, welche einerseits einen Zerfall der Zelle in mehrere Teile und andererseits eine Auflösung in einem uncharakteristischen Trümmerhaufen zeigen. Es scheint, daß Hand in Hand mit dem Zugrundegehen dieser Zellen auch eine mäßige Neubildung von Kupferschen Sternzellen stattfindet. Die Lebercapillaren sind meist mit Blutkörperchen strotzend gefüllt, sichere Anhaltspunkte dafür, daß sich der Blutstrom hinter abgestoßenen Kupferzellen stauen würde, habe ich nicht finden können. Die beschriebene Veränderung an den Epithelzellen ist im allgemeinen diffus in der ganzen Leber zu finden, wenn auch verschiedene Lappen der Leber oder verschiedene umschriebene Teile im Grade der Veränderung in einem gewissen Ausmaße wechseln. Der Zeitpunkt des Einsetzens dieser Veränderung scheint sehr verschieden zu sein, soweit meine Untersuchungen an 18 Lebern gestatteten, scheint die beschriebene Zellwucherung und die Erythrophagocytose an das Auftreten der Anämie zeitlich gebunden zu sein.

Meist, wenn auch nicht so regelmäßig finden sich auch an den Leberzellen selbst Veränderungen. Eine kleintrophige Verfettung der Leber gehört fast zu den regelmäßigen Befunden, wenn auch der Grad der Verfettung in den einzelnen Fällen stark wechselt kann. Bei Hämalaun-Eosinfärbung sieht man in den Leberzellen eine große Anzahl kleinerer oder größerer Vakuolen, die oft das ganze Protoplasm̄ dicht durchsetzen. Mit Sudanfärbung kann mit Sicherheit nachgewiesen werden, daß man es mit Fetttröpfchen zu tun hat. Es scheint, daß diese Verfettung in den zentralen Teilen der Acini häufiger zu finden ist, daß dort vielleicht der Verfettungsprozeß einsetzt und erst allmählich gegen die Peripherie des Acinus fortschreitet. Meist aber sind sämtliche Leberzellen in allen Lappen gleichmäßig von dieser Veränderung ergriffen. Sudanpräparate ergeben in solchen Fällen sehr eindrucksvolle Bilder.

Die ganze Schwere der Veränderungen zeigt sich aber schließlich noch in Nekrosen des Leberparenchyms. Sie sind zwar nicht regelmäßig, aber doch in der Mehrzahl der Fälle zu finden. Oft nur an vereinzelten Stellen von geringer Ausdehnung nehmen sie nicht selten größere Bezirke eines Lappens ein, wobei nur kleine Inseln noch mehr oder weniger unveränderter Leberzellbalken erhalten bleiben. Die Leberzellen der nekrotischen Bezirke erscheinen im allgemeinen kleiner als normal, geschrumpft. Bei Hämalaun-Eosinfärbung nehmen sie einen stärkeren mehr leuchtend roten Farbstoff an und heben sich dadurch von der Umgebung deutlich ab. Die kleinen nekrotischen Bezirke finden sich im allgemeinen an umschriebener Stelle, etwa in der Mitte zwischen interlobulären Feld und Zentralvene, es ist dies aber keine Regel. Gelegentlich sieht man sie auch in der Nähe größerer Gallenwege und in der unmittelbaren Umgebung der Zentralvene. Die Herde können also, wie gesagt, auch eine größere Ausdehnung erfahren, sie können einen Quadranten eines Läppchens oder mehr einnehmen, mehrere Herde können zusammenfließen, und es kann schließlich ein Bezirk von mehreren Läppchen der Nekrose anheimfallen. Nicht selten sieht man ausgedehnte Abschnitte des Organes in diesem Sinne verändert, es bleiben dann meist nur, gerade um die größeren Gallenwege, Teile von Leberzellbalken erhalten, die wie von einem Punkt, eben dem peritonealen Feld, radiär in die nekrotischen Gebiete auszustrahlen scheinen. Die Kerne der nekrotischen Leberzellen zeigennekrobiotische Veränderungen, bald im Sinne einer Kernfragmentation, bald im Sinne einer Hyperchromatose verschiedener Form, oder sie erscheinen als kleine, fein bläulich bestäubte, meist unregelmäßig zusammengeflossene Gebilde, oder sie nehmen eine Färbung überhaupt nicht mehr an. In den benachbarten Leberzellen wird meist neben der Verfettung Kerndegeneration, Hyperchromatose, Chromatinverdichtung und Randstellung des Chromatins, Pyknose usw. beobachtet, anscheinend Verände-

rungen, welche den Zelltod einleiten. Es macht oft den Eindruck, daß die die nekrotischen Teile begrenzenden und in ihrem Bereiche liegenden Capillaren eine große Anzahl fragmentierter Kerne beherbergen, die anscheinend von zugrundehenden Endothelzellen und nur zum kleineren Teil vielleicht auch von Blut-leukocyten abstammen. Eine wesentliche Vermehrung der Zellen findet hier aber anscheinend nicht statt, durch die Schrumpfung der zugrunde gehenden Leberzellen hat es nur den Anschein, daß die Kerne hier dichter liegen als in der Umgebung. Diese zum Teil also wohl nur scheinbare Kernanhäufung gibt den Herden, insbesondere wenn sie klein sind, ein eigenartliches Gepräge. In einer Reihe von Fällen war aber auch eine beträchtliche leukocytäre Infiltration dieser Herde nachzuweisen. Wenn die fragmentierten Kerne am Rande nekrotischer Abschnitte gehäuft liegen, so macht es manchmal der Eindruck, als sei ein derartiger Herd durch die umliegenden Zellen aus dem normalen Verbande losgelöst worden. Irgendwelche sichere Zusammenhänge dieser nur scheinbaren Verstopfung der Capillar-lumina durch Erythrophagen oder überhaupt geblähte Kupferzellen und dem Auftreten der Nekrose oder der Verfettung der Leberzellen habe ich in meinen Präparaten nicht finden können.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß wir in der Leber regelmäßig in größerem oder geringerem Maße Erythrophagocytose in den Kupferschen Sternzellen, Zugrundegehen und Abstoßung derselben, meist auch Verfettung und kleine herdförmige oder auch ausgedehnte Nekrosen des Leberparenchyms finden. An den Gallengängen konnten auffallende Veränderungen nicht nachgewiesen werden.

In den meisten Fällen, in welchen die Ratten unter dem Zeichen der perniziösen Anämie zugrunde gingen, finden sich schwere Veränderungen der *Nieren*. Es ist dies aber keine Regel. Unter 13 untersuchten Fällen konnten die Veränderungen nur neunmal gefunden werden. Die an den Nieren beobachteten Veränderungen sind das histopathologische Korrelat der klinisch beobachteten Hämoglobinurie bzw. Hämaturie. In den Harnkanälchen werden Hämoglobin-, seltener Erythrocytenzylinder gefunden; die Hämoglobinzyliner sind entweder homogen oder, wie meist, fein krümmelig, ihre Farbe bei Hämalaun-Eosinfärbung nicht hellrot, sondern meist leicht bläulich. Oft findet man in der homogenen oder leicht körnigen Grundsubstanz der Zylinder vereinzelte Erythrocyten. Das in den Kanälchen gefundene Hämoglobin stammt, wie die histologischen Bilder in schöner Weise zeigen, aus den Tubuli contorti. Die hohen Epithelzellen sind hier dicht mit Hämoglobintropfen verschiedener Größe gefüllt; die Zellen selbst scheinen durch die übermäßige Aufnahme des Hämoglobins geschädigt zu sein, der Oberflächenkontur des Epithels gegen das Lumen des Kanälchens erscheint oft aufgerissen, und man sieht die Hämoglobintropfen am Durchtritt in das Lumen. Seltener findet man Erythrocyten und deren Bruchstücke und Hämoglobintropfen auch in der Bowmanschen Kapsel, wobei die genannten Gebilde halbmondförmig zwischen den Gefäßknäueln und der Wand der Bowmanschen Kapsel einschieben, den Gefäßknäuel komprimierend. Exsudative Veränderungen, Zellvermehrung in den Glomeruli usw. werden nicht gefunden. Die geschilderten Veränderungen spielen sich vornehmlich nahe der Rinde ab, in den abführenden Harnkanälchen sieht man nur die erwähnten Zylinder liegen. In den meisten Fällen kann der Übertritt von Blut bzw. Hämoglobin in das Kanälchensystem der Niere nur in umschriebenen Abschnitten der Rinde nachgewiesen werden.

Auch die *Lungen* scheinen meist Veränderungen zu zeigen; das histologische Bild ist hier aber schwer zu analysieren. Die Lungen sind im allgemeinen stark hyperämisch. Es scheint, daß auch hier gelegentlich eine Phagocytose von roten Blutkörperchen stattfindet, und daß sich sowohl die Endothelzellen der Capillaren als auch die fixen Zellen der Alveolarsepse an dieser beteiligen. Es ist aber außer-

ordentlich schwer, zu unterscheiden, ob sich die Zellen des Lungengewebes selbst in höherem Ausmaße an der Phagocytose beteiligen, oder ob es sich nicht vornehmlich um intravasale und aus den Blutwegen ausgewanderte Elemente handelt. Das histologische Bild der Lungen war in 13 untersuchten Fällen meistens das gleiche, in 2 Fällen waren die Veränderungen nur angedeutet. Erst ausgedehntere Untersuchungen werden ein sicheres Urteil über diese Veränderungen gestatten.

Die *Lymphknoten* bzw. alles lymphatische Gewebe zeigt ein charakteristisches Bild. Sowohl die bei der Ratte meist ausgedehnten peribronchialen lymphatischen Herde, die retroperitonealen Lymphknoten und die an der Leberpforte, sie alle zeigen ausgesprochene Erythrophagocytose bzw. Phagocytose von Hämoglobintropfen in den Retikuloendothelialzellen. Die Sinusendothelien weisen im allgemeinen die gleichen Veränderungen wie die Kupferschen Sternzellen auf, so daß sich eine genaue Beschreibung erübrigert. Neben den phagocytierten Erythrocyten bzw. Hämoglobintropfen wurde auch manchmal in großer Menge Hämoidsiderinpigment gefunden.

Im *Knochenmark* konnte bisher ein greifbarer pathologischer Befund nicht erhoben werden. Gelegentlich wurde, wenn auch nicht in hohem Maße, in einigen Retikuloendothelialzellen Erythrophagocytose beobachtet.

In einer geringen Anzahl von Fällen wurde auch *Haut* und *Unterhautzellen gewebe* (Pfote und Schnauze) untersucht, ohne daß besondere Veränderungen gefunden werden konnten.

Auf die Resultate der Eisenfärbung in den genannten Organen soll in anderem Zusammenhange später zurückgekommen werden. Es sei hier nur kurz erwähnt, daß überall dort, wo freies Hämoglobin und Erythrophagocytose gefunden wird, mit der Berlinerblau- oder Turnbullblaumethode fein- oder grobkörniges oder diffuses Eisen nachgewiesen werden kann.

Ich möchte nochmals hervorheben, daß ich bei dieser kurzirischen Beschreibung der histologischen Veränderungen auf eine Reihe von Fragen nicht eingehen konnte, und will besonders betonen, daß sich die beschriebenen Befunde ausschließlich auf Organe von Ratten beziehen, welche nach Splenektomie unter schwerer Anämie erkrankt oder eingegangen waren.

Domagk hat in der mehrfach angeführten Arbeit die geschilderten histologischen Veränderungen an entmilzten Ratten ebenfalls gesehen. Es muß auffallen, daß er in seinen Versuchsniederschriften nur einmal eine „kleintropfige Verfettung in den zentralen Läppchenteilen bemerkt und daß er nur bei einem Tier herdförmige Lebernekrosen beobachtet hat. In seinem Versuchspraktoll heißt es: „Stellenweise sind die Leberläppchen vollständig nekrotisch, im Bereich dieser Bezirke sieht man eine besonders auffallende Wucherung der Endothelien.“ Der Unterschied des Befundes hinsichtlich seiner Häufigkeit in seinen und meinen Versuchen erklärt sich wohl damit, daß *Domagk*, soweit aus seinen Versuchsniederschriften ersichtlich ist, nur an einem sehr kleinen Material gearbeitet hat, und daß er die Tiere ohne Berücksichtigung einer nach der Splenektomie etwa auftretenden Anämie nach einer verschiedenen Anzahl von Tagen tötete; er bezog ja die histologischen Veränderungen auch auf die Splenektomie allein, und er glaubte, die verschiedenen zeitlich aufeinanderfolgenden Stadien der Veränderungen durch Untersuchung der Organe in verschiedenen Zwischenräumen nach der Entmilzung

studieren zu können. Es geht aus seinen Versuchspraktiken hervor, daß er zum Teil Tiere untersuchte, welche nach Splenektomie erkrankten, zum Teil solche, welche die Operation anscheinend ohne Schaden überstanden hatten.

Die histologische Untersuchung der Organe von Ratten, welche unter den Zeichen der perniziösen Anämie zugrundegegangen waren, hat also eine Bestätigung unserer schon aus dem klinischen Verlauf der Anämie und aus dem Blutbefund erschlossenen Annahme erbracht, daß wenigstens zum größten Teil eine hämolytische Anämie vorliegt, und sie hat uns gezeigt, wo wir das Grab der roten Blutkörperchen zu suchen haben. Das ganze retikuloendothiale System, voran die Kupferschen Sternzellen, ferner die lymphatischen Gewebe und wahrscheinlich auch die Lungen beteiligen sich an der Vernichtung der roten Blutkörperchen durch Phagocytose. Als positives Ergebnis der histologischen Untersuchung darf auch angeführt werden, daß durch diese das Auftreten der degenerativen Monozytenformen und die häufig beobachtete Erythrophagocytose im strömenden Blut eine Erklärung findet. Wir wissen aus den Arbeiten von *Aschoff* und *Kiyono* u. a., daß die Retikuloendothelialzellen, die sich aus ihrem Verbande losgelöst haben, im strömenden Blut als Monozyten erscheinen. Wenn wir nun sehen, wie sich in der Leber, Thymus, Lunge, Lymphknoten, kurz in allen Zellen des retikuloendothelialen Systems im Stadium der Anämie schwere Veränderungen mit Phagocytose, Degeneration und Abstoßung der Zellen abspielen, so ist es klar, daß diese Zellen auch im strömenden Blute erscheinen müssen. Speziell aus welchen Organen die Erythrophagen, die wir im Schwanzvenenblut nachweisen, herrühren, ist naturgemäß in keiner Weise zu entscheiden. Ich möchte glauben, daß die abgestoßenen Kupferschen Sternzellen kaum oder wenigstens nur in geringer Anzahl in den großen Kreislauf übertragen können, da sie ja erst das Capillarnetz der Lunge durchwandern müßten, und es wahrscheinlicher erscheint, daß sie hier abgefangen werden. Nach meinen bisherigen Untersuchungen an der Lunge kann ich, wie schon gesagt, mit Sicherheit nicht entscheiden, ob die Erythrophagen in der Lunge eingeschwemmte oder in der Lunge autochthon entstandene Phagocyten sind. *Domagk* hat den Befund der Erythrophagocytose im strömenden Blut nach Entmilzung von Ratten eingehend beschrieben und erläutert, und ich möchte auf diesen Punkt daher nicht näher eingehen. Ich schließe mich seinen Ausführungen hinsichtlich der Natur dieser Zellen als Retikuloendothelialzellen durchaus an, möchte aber unterstreichen, daß ich nicht nur die Kupferzellen und Endothelzellen des Netzes, sondern das gesamte retikuloendothiale System im engeren Sinne des Wortes für das Auftreten der in Rede stehenden Zellen verantwortlich machen möchte, und daß ich glaube, daß nicht nur gealterte und ver-

brauchte, sondern auch relativ junge Erythrocyten den Freßzellen zum Opfer fallen.

Bald nach *Domagk* berichteten, wie erwähnt, noch ohne Kenntnis seiner Arbeit, *Hirschfeld* und *Sumi* über den gleichen Befund; auch sie konnten Erythrophagocytose im strömenden Blute nach Milzextirpation in drei Fällen beobachten, und zwar interessanterweise sowohl bei Ratten als auch bei Mäusen und Meerschweinchen. Der Befund dieser Forscher weicht insofern von dem von *Domagk* an Ratten erhobenen ab, als Erythrophagocytose auch in neutrophilen Leukocyten festgestellt werden konnte, ein Befund, der nach Ansicht der Untersucher dafür spreche, daß es sich bei der Erythrophagocytose wahrscheinlich um einen im strömenden Blute stattfindenden Vorgang handle. Ich selbst habe Erythrophagocytose in Leukocyten bei Ratten trotz Durchsicht einer sehr großen Anzahl von Präparaten niemals beobachten können, und ich muß mich daher wohl der Ansicht *Domagks* der Hauptsache nach anschließen, daß die Erythrophagen Retikuloendothelialzellen vorstellen, welche rote Blutkörperchen aufnahmen und dann abgestoßen wurden, wofür ja auch der histologische Befund am retikuloendothelialen System spricht, wenngleich ich gegen die Annahme, daß auch im strömenden Blute Phagocytose auftreten könnte, einen zwingenden Gegengrund nicht vorbringen kann. Trotz meiner diesbezüglichen negativen Untersuchungsergebnisse will ich die Möglichkeit einer Erythrophagocytose in neutrophilen Leukocyten keineswegs bestreiten. Die Frage, ob die beobachteten mononucleären phagocytierenden Elemente phagocytierende Blutmonocyten oder R.-E.-Zellen sind, die vor ihrer Abstoßung phagocytierten, wird schwierig sein zu entscheiden. In einem einzigen Fall konnte ich, ebenso wie die genannten Autoren, Phagocytose eines Leukocyten durch einen Monocyte feststellen¹⁾.

¹⁾ Nach Fertigstellung dieser Arbeit erschien die ausführliche Veröffentlichung von *Hirschfeld* und *Sumi* in *Folia haematol.* **31**, H. 2, S. 73. Sie teilen mit, daß sie bei ungefähr 20 Ratten nach Milzextirpation Erythrophagocytose im strömenden Blut als regelmäßigen Befund haben erheben können. Es beteiligen sich an der Erythrophagocytose polymorphe kernige Leukocyten, Monocyten und eigentümliche, dem Normalblut fremde Zellen, die nach ihrem Habitus mit endothelialen Zellen identifiziert werden müssen. Auch bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen wurde im strömenden Blut nach Splenektomie Erythrophagocytose, wenn auch nicht so regelmäßig, nachgewiesen. Bei Hunden wurde sie vermißt. Es ist bemerkenswert, daß bei der Ratte die in Rede stehenden Zellen oft durch mehrere Wochen hindurch gefunden wurden. Meine Erfahrungen hinsichtlich der Ratte decken sich mit diesen Angaben nicht, wie aus meiner Arbeit ja hervorgeht. Ich fand erstens die Erythrophagocytose nur etwa in der Hälfte der Fälle und zweitens war die Erscheinung in meinen Versuchen nur im Stadium der Anämie zu beobachten. *Hirschfeld* und *Sumi* berichten nun nicht über Krankheitsscheinungen oder anämische Symptome ihrer Tiere; sie vermerken aber, daß Ratte 4 am 3. Tage nach der Entmilzung starb. Die bei diesem Tiere am

Ich möchte hier nebenbei einfügen, daß *Domagk*s Befunde insofern mit den meinen übereinstimmen, als auch er gleichzeitig mit der Erythrophagocytose im Blutbild eine Neutrophilie verzeichnet.

Wenn ich nun wieder auf die Besprechung der histologischen Befunde und deren Wert für die Klärung des vorliegenden Problems zurückkomme, so möchte ich nochmals betonen, daß uns die Histologie die Stätte des Unterganges der Erythrocyten aufgedeckt hat. Wir wissen nun, wohin die Erythrocyten aus dem Kreislauf verschwinden, und wir erkennen damit den Mechanismus des Entstehens dieser Anämie. Die Histologie hat uns desgleichen den Weg gewiesen, auf dem das Hämoglobin bzw. die roten Blutkörperchen in die abführenden Harnwege gelangen. Einen tieferen Einblick in das pathogenetische Geschehen aber, eine Klärung der Frage, warum nach der Splenektomie diese Hämolyse einsetzt und welcher Faktor letzten Endes diese Phagocytose und Vernichtung der roten Blutkörperchen auslöst, hat uns die mikroskopische Untersuchung der Organe keineswegs gebracht. In diesem Sinne ergibt das Studium der Histologie ein unbefriedigendes Ergebnis; auch die Hämoglobinämie und die schweren Leberveränderungen sind uns nicht ohne weiteres verständlich geworden.

Tage des Todes gefundene hohe Zahl der Erythrophagen (10,55%) läßt nun vielleicht vermuten, daß das Tier an perniziöser Anämie zugrunde ging. Die Mehrzahl der Tiere dagegen überlebte lange Zeit und es muß aus der Arbeit der genannten Forscher wohl daher geschlossen werden, daß auch die Splenektomie an sich zum Auftreten von Erythrophagocytose führen kann, ohne daß die Tiere an perniziöser Anämie erkranken; die Erythrophagocytose könnte hier als der Ausdruck eines vikariierenden Einspringens des gesamten R.E.S. für die verlorengegangene blutzerstörende Funktion der Milz gewertet werden.

Wie meine hinsichtlich der Erythrophagocytose negativen Befunde an Ratten, die entweder überhaupt nicht erkrankten oder noch nicht anämisch waren — ich habe nach Erscheinen der zitierten Arbeit neuerlich eine große Anzahl von Präparaten durchgesehen — mit denen von *Hirschfeld* und *Sumi* in Einklang zu bringen sind, kann ich vorläufig nicht entscheiden.

Der den Forschern gelungene Nachweis von Erythrophagocytose im strömenden Blut nach Einspritzung von Blut in das Peritoneum ist außerordentlich bemerkenswert. Ich schließe mich ihrer Ansicht durchaus an, daß die nach Milzextirpation beobachtete Erythrophagocytose nicht durch Resorption des in die Bauchhöhle ergossenen Blutes erklärt werden kann. Dies scheinen ja auch meine Kontrollversuche (Laparotomie, Netzresektion usw.), bei welchen niemals Erythrophagocytose beobachtet wurde, zu beweisen.

Ich möchte glauben, daß die Erythrophagocytose, die, wie aus den Arbeiten von *Hirschfeld* und *Sumi* ja auch hervorgeht, verschiedenste Ursachen haben kann, in meinen Versuchen in die Gruppe jener Erythrophagocytosen einzuordnen ist, welche Folge einer schweren Schädigung der in der Zirkulation befindlichen roten Blutkörperchen sind. Ein einfaches vikariierendes Eintreten mononucleärer Elemente für die ausgefallene Milzfunktion kann als Erklärung für das Auftreten der Erythrophagocytose in meinen Versuchen nicht in Betracht kommen.

VI. Diskussion der Erklärungsversuche anderer Forscher.

Domagk hat versucht, dem nach der Splenektomie auftretenden Symptomenkomplex eine Erklärung zu geben. Zur ersten seiner Annahmen, daß nämlich die Wucherung der Kupferschen Sternzellen, im Bestreben, die Milzfunktion zu ersetzen, über das Maß hinausschösse und auch normale Erythrocyten zerstöre, möchte ich folgendes bemerken: Es kann hier nicht meine Aufgabe sein, in extenso, mit Anführung der gesamten Literatur auf die Beziehungen der Milz zum retikuloendothelialen System überhaupt, auf die Folgen der Milzextirpation für das retikuloendotheliale System im besonderen einzugehen. Es liegen wohl eine Reihe von Beobachtungen vor, die zu beweisen scheinen, daß bestimmte Funktionen der Milz (Blutmauserung, Eisenstoffwechsel, Immunkörperbildung usw.) nach Milzausfall vom retikuloendothelialen System übernommen werden und daß vor allem das große Lager der Kupferschen Sternzellen besetzend für die Milz eintritt. Hierbei paßt sich das R.-E.-S. dem Milzausfall langsam an, wie ja insbesondere die Studien über die Immunkörperbildung nach der Splenektomie in klarer Weise zeigen (*Ruß* und *Kirschner* u. a.). Es geht aber aus der Literatur nirgends hervor, daß das retikuloendotheliale System als Ersatz für die verlorengegangene physiologische Milzfunktion einspringend durch pathologisch gerichtete Überfunktion krankheitsverursachend wirke. Und selbst zugegeben, es würde in unserem speziellen Fall eine Überfunktion der Kupferzellen einsetzen, so ist das Auftreten einer Hämoglobinämie bzw. Hämoglobinurie und Hämaturie noch immer durchaus unverständlich. Auch gegen die zweite Annahme *Domagks*, daß eine bestimmte Latenzzeit verstreicht, ehe die Kupferzellen ihre Funktionsreife erlangen, und daß dann plötzlich die schon längst zum Untergange bestimmten Erythrocyten phagocytiert werden, lassen sich eine Reihe von Einwänden erheben. Ganz abgesehen davon, daß es den allgemein biologischen Erfahrungen widerspricht, daß ein Zellkomplex, der eine Funktion übernehmen soll, zur Zeit der Anpassung an seine neue Funktion überhaupt nicht funktioniert, um plötzlich nach einiger Zeit über die neue Eigenschaft in übergroßem Maße zu verfügen — sind wir doch gewöhnt zu sehen, daß eine neue Funktion im allgemeinen mit langsam und stetig zunehmender Arbeit und wahrscheinlich erst durch diese allmählich erlernt wird —, ganz abgesehen also davon, läßt sich die Annahme *Domagks* mit den von mir erhobenen Befunden nur schwer vereinbaren. Es gilt dies vor allem für das manchmal frühzeitige, manchmal späte Einsetzen der Anämie, für das Fehlen von Übergängen zwischen schwerer Anämie und schadlosem Ertragen der Entmilzung und das Ausbleiben der Anämie bei Mäusen und Kaninchen. Die schweren degenerativen nekrotischen Veränderungen am Leberparenchym erscheinen mir durch die Annahme einer Verstopfung

der Lebercapillaren durch abgestoßene Epithelzellen ebenfalls zu mindestens nicht genügend begründet. Ohne Berücksichtigung des Umstandes, daß ich sichere Anhaltspunkte für eine derartige Verstopfung nicht habe regelmäßig finden können, und daß es mir auch scheint, daß eine gequollene degenerative Epithelzelle kaum zu einem dauernden embolischen Verschluß einer Lebervene mit Nekrose der entsprechenden Leberzellbalken führen kann, scheint mir eine derartige Verlegung eine diffuse, über die ganze Leber ausgebreitete fettige Degeneration der Leberzellen in keiner Weise zu erklären. Auch die Annahme, daß mit Einsetzen der Anämie nur jene Erythrocyten durch Phagocytose vernichtet werden, welche schon längst dem Untergang bestimmt, aber wegen Ausfallens der Milz nicht phagocytiert wurden, läßt sich mit der Tatsache widerlegen, daß oft schon wenige Tage nach der Splenektomie fast die gesamte vorhandene Blutmenge vernichtet wird, wie ich oben zeigen konnte. Es werden während der Blutkrise gewiß nicht nur die seit der Splenektomie für den Untergang fälligen, sondern eine viel größere Zahl unveränderter, noch nicht abgebrauchter Erythrocyten aus dem Blut eliminiert.

Die vorgebrachten Gründe genügen, um zu zeigen, daß *Domagk* Annahmen nicht zu Recht bestehen können. Hätte *Domagk* das Blutbild genauer analysiert und wäre er sich der ganzen Schwere dieser Anämie bewußt geworden, so hätte er sich mit diesem Erklärungsversuch auch nicht zufrieden gegeben. Beim Studium der vorliegenden Fragen drängt sich vielmehr die Vermutung auf, daß die Splenektomie allein nicht das Maßgebende sein könne und daß noch irgendein anderer Faktor mit im Spiele sein müsse, welcher entweder an den Endothelzellen oder an den Erythrocyten des strömenden Blutes seine verderbliche Wirkung entfaltet. Ich kam zur Überzeugung, daß *Domagk* insofern Ursache und Wirkung verwechsle, als er in der übermäßigen Phagocytose und der außergewöhnlichen Reaktion des R.-E.-S. die Ursache des ganzen Vorganges erblicke, statt in dieser Wirkung und Folge einer sich in der Ratte abspielenden schwersten, vorläufig noch auf unbekannte Ursachen zurückzuführenden Hämolyse zu sehen. Einen Hinweis für die Richtigkeit dieser Auffassung sah ich in Befunden von *Pearce* und *Austin*, welche bei Hunden, die vor länger als zwei Wochen splenektomiert und mit hämolytischen Amboceptor gespritzt wurden, an den Lymphknoten und an der Leber histologische Bilder nachweisen konnten, die den von uns an der Ratte beobachteten weitgehend gleichen. Bei gesunden Hunden konnte der gleiche Befund niemals erhoben werden. Die Verfasser nehmen an, daß sich bei den splenektomierten Hunden von seiten der Lymphknoten und der Leber eine „compensatory function“ entwickelt habe in dem Sinne, daß nach Einwirken des Hämolsins die Erythrocytentrümmer und

Schlacken statt von der Milz von den genannten Zellen aufgenommen werden.

In diesem Zusammenhange muß ich auch kurz die Arbeit von *Lepehne* streifen, der beim Studium des Eisenstoffwechsels entmilzter Ratten ebenfalls die Hämaturie bzw. Hämaglobinurie und die entsprechenden Veränderungen an den Nieren gesehen hat. *Lepehne* hält es für möglich, daß es sich um eine der Milzextirpation folgende „reflektorisch ausgelöste Hämaglobinzerstörung“ mit vermehrter Tätigkeit der Kupferzellen und des R.-E.-Apparates des Knochenmarkes handelt, wobei er im Auge behält, daß die beiden Prozesse, Eisenausscheidung und Hämaglobinzerstörung, gleichzeitig nebeneinander herlaufen. Er erklärt das verschiedene Verhalten von Mäusen und Ratten durch die auffallende Größe der Rattenmilz, welche 0,5—1,0% des Körpergewichts ausmacht. Auf die Ausführungen *Lepehnens* über den Eisenstoffwechsel bei splenektomierten Ratten werde ich an anderer Stelle zurückkommen. Die „reflektorisch“ gedeutete Erythrocytenzerstörung ist in ihrer Fassung als „reflektorische“ Erscheinung so unklar gefaßt, daß mir für ihre Besprechung eine genügende Basis zu fehlen scheint und daß diese sich daher erübrigert. Daß übrigens, entgegen der Ansicht *Lepehnens*, der Milzausfall an sich für die Hämaglobinämie nicht verantwortlich gemacht werden kann, geht, wie gezeigt, aus meinen Versuchen mit Sicherheit hervor.

VII. Pathogenese, Infektion, Übertragungen.

Wenn auch die früheren Überlegungen, wie gesagt, zur Annahme drängten, daß die Splenektomie allein für den beobachteten pathologischen Zustand nicht verantwortlich gemacht werden konnte, so mußte ihr doch unbedingt eine bedeutsame Rolle zukommen, denn eine große Anzahl von Vergleichen, die darauf hinausgingen, durch eine einfache Laparatomie oder eine Netzresektion oder Nephrektomie oder andere chirurgische Eingriffe bei den Ratten die gleiche Anämie hervorzurufen, hatten ein negatives Resultat. Eine von 14 durchgeföhrten Kontrolluntersuchungen machte scheinbar eine Ausnahme. Ich möchte den Fall protokollarisch darstellen.

R. 9. Gesundes Tier. 15. VI. Erythrocytenzahl 7 270 000, Leukocytenzahl 13 000; morphologisches Blutbild o. B. Am gleichen Tag Laparotomie in Äthernarkose und Excision eines großen Stückes des Omentum majus. Im Operationsprotokoll ist ausdrücklich vermerkt, daß das Ligamentum gastrolienale zum Teil mitunterbunden und durchschnitten und daß eine verhältnismäßig große, von der Milz kommende Vene stark blutete und unterbunden wurde.

17. VI. Das Tier ist krank, sieht anämisch aus. Die Erythrocytenzahl 2 830 000, Leukocytenzahl 23 000. Die Zahl der Normoblasten im morphologischen Blutbild ist gegen die Norm etwas erhöht, die Zahl der polychromatischen Erythrocyten hat zugenommen, neutrophile Leukozyte.

Die Zahl der Erythrocyten steigt in den nächsten Tagen und hat 10 Tage nach der Operation die Ausgangszahl wieder erreicht. Das Tier wird 14 Tage nach Laparotomie getötet. Bei der Autopsie findet sich am unteren Milzpol ein kleiner Infarkt. Die histologische Untersuchung der Organe ergibt keine Besonderheiten.

Dieser Versuch ist nicht leicht zu deuten, denn es steht die schwere Anämie von 2,8 Millionen mit dem kaum von der Norm abweichenden morphologischen Blutbild im Gegensatz. Wir haben hier nicht gleiche Verhältnisse wie bei der nach Splenektomie auftretenden perniziösen Anämie. Auch der negative histologische Befund spricht nicht für eine Gleichartigkeit beider Prozesse. Die Leukocytose könnte als einfache Folge der Laparotomie gedeutet werden. Immerhin muß aber zugegeben werden, daß es sich hier um einen abortiven Fall gehandelt haben könnte, bei dem es deshalb nicht zum vollentwickelten Krankheitsbild kam, weil die Milz durch die bei der Operation gesetzten Kreislaufstörung vielleicht nur vorübergehend und unvollständig ausgeschaltet wurde. Ich komme auf diesen Versuch später zurück.

Versuche an R. 86 und 87, dieses Experiment durch beabsichtigte teilweise Unterbindung der Milzgefäß nachzuahmen, gelangen nicht. Während das eine Tier anscheinend an den unmittelbaren Folgen der Operation, ohne anämische Zeichen gezeigt zu haben, einging, blieb das zweite Tier dauernd gesund.

Wenn wir also von dem in seiner Deutung unsicheren Befund bei R. 9 absehen, bewiesen die Kontrollen, daß die Milzentfernung zumindestens *mit* die Ursache für das Auftreten der beobachteten perniziösen Anämie abgeben müsse. Es war aber möglich, daß die Splenektomie für das Wirksamwerden eines zweiten Faktors den Boden vorbereiten und daß erst das Zusammenwirken von Milzausfall plus diesem Faktor ausschlaggebend sei. Unter den möglichen Faktoren kam vor allem die Äthernarkose bzw. ihre Dauer in Frage. Wie aber schon aus den Versuchen von *Lepehne* und insbesondere aus denen von *Domagk* hervorgeht, war die Annahme, daß der Narkose diese bedeutsame Rolle zufalle, nicht gerechtfertigt, und ich habe mich in einer Reihe von Versuchen davon selbst überzeugt. Auch während der Splenektomie nicht narkotisierte Tiere erkrankten unter den gleichen Erscheinungen. *Domagk* glaubte die Bedeutung der Äthernarkose auch damit ablehnen zu können, daß er nachwies, daß es bei vor längerer Zeit splenektomierten Tieren, bei welchen die Anämie von selbst wieder geschwunden war, nicht gelingt, die Anämie durch Äthernarkose zu erzeugen. Über die Richtigkeit der Behauptung *Domags*, daß die in Äthernarkose operierten Tiere häufiger erkrankten als die nicht narkotisierten, kann ich mir ein Urteil nicht erlauben, da mir ein genügendes Versuchsmaterial nicht zur Verfügung steht.

Als ich bei der histologischen Untersuchung einer exstirpierten Milz bemerkte, daß ich gleichzeitig mit der Milz auch ein Stückchen Pankreaschwefel mit entfernt hatte, glaubte ich vielleicht hierin einen Anhaltspunkt gefunden zu haben. Genauestens durchgeführte Versuche, in welchen einerseits die Milz sorgfältig abpräpariert wurde

oder andererseits neben der Splenektomie ein großes Stück Pankreas mit reseziert wurde, zeigten in ihren Ergebnissen aber keinen Unterschied.

Bei den Autopsien nach Splenektomie erkrankter und verendeter oder aber gesund gebliebener Tiere wurde auf das Vorhandensein bzw. Fehlen von Nebenmilzen genau geachtet, da ein derartiger Befund für das Auftreten oder Ausbleiben der Erkrankung hätte maßgebend sein können. Nebenmilzen wurden aber niemals gefunden.

Ein weiteres Moment jedoch, welches für die Entscheidung der vorliegenden Frage von Wichtigkeit sein konnte, mußte Berücksichtigung finden: Der Eisengehalt der Nahrung der Tiere. Denn es finden sich in der Literatur einschlägige Angaben. Da ich über dieses Thema demnächst berichten werde, möchte ich die Literatur nicht ausführlich besprechen, sondern nur kurz darauf hinweisen, daß *Asher* und *Vogel* mitteilten, daß die Milzextirpation bei eisenarm ernährten Hunden eine starke, wochenlang anhaltende Verminderung der Hämoglobin- und Erythrocytenzahlen hervorruft, welche schwindet, sobald eisenreiche Kost gegeben wird. Es hatte auch *Lepehne* geglaubt, zeigen zu können, daß eisenarm ernährte Ratten die Splenektomie weniger gut vertragen als eisenreich gefütterte Tiere. Ich habe mich aber in einer Reihe von Versuchen davon überzeugt, daß der Eisengehalt der Nahrung für das Auftreten der perniziösen Anämie der Ratte nicht von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Vier Ratten bekamen neben Fleisch, welches an sich schon eisenreich ist, durch mehrere Tage Semmeln, welche mit Ferrum oxydatum saccharatum dicht bestäubt waren. Hierauf wurden sie splenektomiert und weiter mit Eisen gefüttert. Zwei von diesen Tieren erkrankten nach 3 bzw. 5 Tagen unter den typischen Erscheinungen; schwere Anämie, charakteristischer histologischer Befund.

Die beiden übrigen eisenreich gefütterten Tiere, die aus äußeren Gründen leider nur 8 Tage genauer beobachtet werden konnten, zeigten keine Krankheitszeichen. 2 Monate nach der Splenektomie wurde bei ihnen ein normaler Blutbefund erhoben; die Tiere wurden getötet, die histologische Untersuchung der Organe ergab keine Besonderheiten.

Diese Versuche gestatten keinen Schluß in der Richtung, ob eisenreich gefütterte Tiere tatsächlich seltener die Anämie zeigen, sie beweisen aber, daß die Anämie trotz eisenreicher Kost in ihrem voll entwickelten Bild auftreten kann.

Durchaus eisenfreie Nahrung (Reis und Milch), die bei einigen Tieren versucht wurde, hatte, soweit meine Versuche einen Schluß erlauben, keinen sicheren Einfluß auf die Häufigkeit und die Schwere der der Splenektomie folgenden Erkrankung.

Schließlich mußte noch daran gedacht werden, daß das Ausbleiben bzw. das Auftreten der Anämie in den verschiedenen Fällen durch einen verschiedenen Funktionszustand der Milz zur Zeit der Splenektomie bedingt sein könnte. Ein Anhaltspunkt für die Stichhähigkeit dieser

Annahme gab die Beobachtung, daß die erkrankenden Tiere meist eine ungewöhnlich große, anscheinend hyperämische Milz gehabt hatten. Es fanden sich aber zu viele Ausnahmen von dieser Regel, auch das histologische Bild der unterschiedlichen Milzen konnte sichere Unterschiede nicht aufdecken, so daß auch dieser Erklärungsversuch scheiterte.

Eine Reihe klinischer Beobachtungen und das Studium der histologischen Untersuchung der Organe gaben meinen Untersuchungen eine andere Richtung. Es schienen mir nämlich einige Momente dafür zu sprechen, daß der perniziösen Anämie der Ratte eine infektiöse Ursache zugrunde liegt.

So hatte ich mehrmals die Beobachtung gemacht, daß Tiere, welche aus der gleichen Zucht stammten und die am gleichen Tage splenektomiert wurden, auch am gleichen Tage oder nach Ablauf einer annähernd gleichen Frist erkrankten und eingingen. Es traf dies insbesondere dann zu, wenn die Tiere nach der Splenektomie im gleichen Käfig untergebracht waren. Hierbei schwankte in den einzelnen Versuchen die Zeit, welche seit der Splenektomie verflossen war; bald erkrankten alle am gleichen Tag operierten Tiere am 3., bald alle am 5. oder 6. Tage. Hier einige Beispiele:

I.

R. 22

R. 23

- | | | |
|----------|--|--|
| 21. VII. | Splenektomie. | Splenektomie. |
| 28. VII. | Das Tier ist schwer krank.
E. 2 442 000, L. 26 000. | Das Tier ist schwer krank.
E. 1 860 000, L. 68 000. |
| | Das Tier erholt sich in der Folgezeit allmählich. | Getötet. |

II.

R. 27

R. 28

- | | | |
|----------|---|--|
| 30. VII. | Splenektomie. | Splenektomie. |
| 4. VIII. | Schwere Allgemeinerscheinungen.
E. 1 195 000, L. 83 000. Tod | Schwere Allgemeinerscheinungen.
Vor Blutuntersuchung Tod.
Charakteristische histologische Veränderungen. |

III.

R. 50

R. 51

- | | | |
|--------|---|--|
| 28. X. | Splenektomie. | Splenektomie. |
| 1. XI. | Schwere Allgemeinerscheinungen.
E. 1 550 000. Getötet. | Schwere Allgemeinerscheinungen.
E. 2 700 000, L. 46 000. Getötet. |
| | Charakteristische histologische Veränderungen. | |

IV.

R. 54

R. 55

- | | | |
|--------|--------------------|--------------------|
| 31. X. | Splenektomie. | Splenektomie. |
| 4. XI. | Schwere Anämie. | Schwere Anämie. |
| 5. XI. | Früh tot gefunden. | Früh tot gefunden. |

Während wir also im Versuch 1 bei beiden Tieren eine Latenz von 7 Tagen beobachteten, haben wir in Versuch 2 eine solche von 5, im Versuch 3 eine solche von 3 und im Versuch 4 eine solche von 5 Tagen. Es ist gewiß richtig, daß das gleichzeitige Erkranken gleichzeitig operierter Tiere nicht immer zutrifft; aber es war häufig genug, um aufzufallen. Es ist kein Zweifel, daß eine derartige, bis zu einem gewissen Grade konstante Latenz zwischen Operation und Krankheitsbeginn an die Inkubation bei Infektionskrankheiten außerordentlich erinnert. Die bei den Tieren des gleichen Versuches gleich lange, bei den verschiedenen Versuchen aber verschieden lange Inkubation konnte durch eine größere oder geringere Virulenz des jeweiligen pathogenen Stammes erklärt werden.

Ich hatte ferner gesehen, daß in einem Käfig nach gleich langer Zeit nach der Splenektomie sämtliche Tiere erkrankten und starben, während die Tiere eines anderen Käfigs gesund blieben, ein Verhalten, welches wieder als Fingerzeig für die Richtigkeit der Annahme einer infektiösen Entstehung der Krankheit angesehen werden konnte. Auch der ganze Verlauf der Krankheit zeigte viele Eigenheiten, welche wir bei Infektionskrankheiten zu finden gewohnt sind: vor allem der akute Beginn und der foudroyante, oft innerhalb weniger Tage zum Tode führende Verlauf, dessen Erklärung, wie oben gezeigt, auf so große Schwierigkeiten gestoßen war.

Schließlich hätten durch die Annahme einer Infektion auch die histologischen Befunde in mancher Hinsicht eine Erklärung gefunden. Es gilt dies insbesondere für die diffuse, parenchymatöse Leberschädigung. Die akute diffuse Leberverfettung z. B. kann ja kaum anders als die Wirkung einer allgemeinen Intoxikation bzw. Infektion gedeutet werden.

Der nächstliegende Gedanke war der, daß die Tiere während der Operation infiziert wurden. Wenn gleich nun auch bei der Splenektomie nach allen Regeln der Asepsis vorgegangen wurde, und auch die Autopsie und der histologische Befund keine Anhaltspunkte für eine Sepsis mit irgendwelchen Bakterien ergab, welche während der Operation in den Tierorganismus eingebracht worden wären, und diese Möglichkeit daher an sich schon unwahrscheinlich anmutete, so habe ich zur Ausschaltung dieser Fehlerquelle bei vielen kranken oder eben verendeten Tieren Züchtungsversuche unter aeroben und anaeroben Bedingungen auf den verschiedensten Nährböden, sowohl vom peripheren Blut und Herzblut als vom Peritoneum, vom Milzstumpf und aus der Leber als jenem Organ, welches die schwersten Veränderungen zeigte, vorgenommen, aber mit durchaus negativem Ergebnis. In einer verschwindenden Minderzahl der Fälle wuchsen zwar vereinzelte Keime, die aber auf Grund ihrer Art, ihrer Verschiedenheit in den verschiedenen Versuchen, ihres unregelmäßigen Vorkommens, auf Grund des Umstandes, daß in einem Falle z. B. in

10 Kulturröhrchen nur in einem oder in zweien Wachstum auftrat, mit Sicherheit als zufällige Verunreinigungen der Kulturen angesehen werden mußten. Im allgemeinen blieben die Kulturen steril. Mikroskopische Untersuchungen von Blut und von Preßsaft verschiedener Organe im Dunkelfeld hatten ein negatives Ergebnis.

Sollte die Annahme einer Infektion zu Recht bestehen, so mußte daher an einen aus Blut und aus den Geweben nicht züchtbaren und mikroskopisch nicht sichtbaren Ansteckungsstoff gedacht werden. Um auch diese Möglichkeit ausszuschließen, bzw. um den Nachweis eines derartigen infektiösen Agens zu führen, wurden Tierpassagen angelegt. Mit Rücksicht auf die schweren Veränderungen der Leber wurde zu den Übertragungen Leberextrakt gewählt. Eine steril entnommene Leber oder einige Lappen von dieser, welche von einer unter den klassischen Symptomen zugrunde gegangenen Ratte stammten, wurden im Mörser unter streng aseptischen Kautelen verrieben, der Leberbrei wurde mit histologischer Kochsalzlösung verdünnt und durch Glaswolle filtriert. Man erhält so eine gleichmäßig trübe Flüssigkeit. Diese wurde zum Teil auf subcutanem, intraperitonealem oder intravenösem (Schwanzvene) Wege auf die Passagiertiere übertragen. Da allem Anschein nach nur splenektomierte Tiere erkrankten — nicht entmilzte Tiere, welche sich mit kranken Tieren im gleichen Käfig befanden und daher dieser angenommenen Infektion ausgesetzt waren, waren ja nie erkrankt —, wurden entmilzte Ratten, welche nach der Operation keine Allgemeinerscheinungen gezeigt hatten, als Passagiertiere verwendet. Eine dauernde Kontrolle des Blutbefundes nach deren Splenektomie bot eine Gewähr, daß die Tiere die Splenektomie tatsächlich symptomlos überstanden hatten.

Im folgenden seien die Protokolle der hierher gehörenden Versuche auszugsweise mitgeteilt.

I.

R. 47. 25. X. Splenektomie. 29. X. Leichte Allgemeinerscheinungen, Blässe. Das Tier magert rapid ab und geht am 30. X. unter typischen Erscheinungen mit Hämoglobinurie und leichtem Ikterus ein. Im Schwanzvenenblut wird eine schwere Anämie nachgewiesen; morphologisch perniziös-anämisches erythrocytäres Blutbild. Neutrophile Leukocytose, Erythrophagocytose. Die Züchtung aus Peritoneum und Herzblut auf den verschiedensten Nährböden, aerob und anaerob, hat ein negatives Ergebnis. — Leberbrei dieser Ratte wird auf das entmilzte Tier R. 39 und auf das milzhaltige Tier R. 53 übertragen.

R. 39. Bei diesem Tiere war am 5. VIII. eine Laparotomie und Netzresektion ausgeführt worden, die das Tier gut überstand (siehe frühere Kontrollversuche). Am 12. X. ergab die Blutuntersuchung eine Erythrocytenzahl von 7 935 000, eine Leukocytenzahl von 14 000; das morphologische Blutbild o. B. Am gleichen Tag Splenektomie. Das Tier bleibt bis zum 30. X., also 18 Tage nach der Splenektomie vollkommen gesund. Am 30. X. wird Leberbrei von R. 47 subcutan

verimpft, das Tier geht am 28. XI. unter Zeichen der Anämie innerhalb eines Tages ein. Bei der Obduktion wird eine große weiche, gelbliche Leber mit verwaschener Zeichnung gefunden. — Histologisch die früher für die perniziöse Anämie beschriebenen Veränderungen an Leber und Nieren.

R. 53. Milzhaltiges Tier gleichzeitig mit R. 39 am 30. X. Einspritzung unter die Haut einer gleichgroßen Dosis von Leberextrakt von R. 47. Das Tier bleibt während einer Beobachtungszeit von 2 Monaten gesund.

Der Leberextrakt von R. 39 wird in der zweiten Passage auf die entmilzten Tiere R. 52 und R. 46 und auf die milzhaltigen Tiere R. 48 und R. 49 verimpft. R. 52 und R. 48 werden gleichzeitig subcutan und intravenös, R. 56 und R. 49 nur subcutan infiziert.

R. 52 war am 28. X. entmilzt worden. Es überstand die Entmilzung gut. Am 9. XI., also 11 Tage später, wird das Tier mit dem Leberextrakt von R. 39 subcutan und intravenös geimpft. Am 15. XI. ist das Tier auffallend ruhig, sieht krank und anämisch aus. E. 2 520 000, im Ausstrich die Zeichen schwerer Anämie, Anisocytose, Megalocytose, Polychromasie, Normoblasten, neutrophile Leukocytose. Das Tier erholt sich in der Folgezeit; es hat am 26. XI. bereits wieder 5 040 000 E. Am 16. XII. 6 130 000 E. Im Ausstrich werden aber auch jetzt noch reichlich degenerative Monozytenformen bei neutrophiler Leukocytose und reichlich polychromatische Erythrocyten, dagegen nur spärliche Normoblasten gefunden; die Anisocytose ist nur mehr angedeutet. Am 29. II. werden 8 050 000 E. gezählt.

R. 46. 25. X. Entmilzung. Das Tier bleibt gesund, zeigt am 31. X. 7 700 000 E. Am 29. XI. wird es mit dem Leberextrakt von R. 39 unter die Haut geimpft. Das Tier bleibt vorerst gesund; die am 15., 18. und 19. XI. vorgenommene Blutuntersuchung ergibt 7—8 Millionen E. Am 23. XI. ist es schwer krank, stark abgemagert, anämisch. E. 1 230 000; L. 42 000; morphologisch perniziös-anämisches Blutbild. Am 24. XI. wird das Tier tot gefunden.

R. 48 und R. 49, die am 25. X. eine Laparotomie und Netzresektion überstanden und bis 9. XI. gesund geblieben waren, werden jetzt mit Leberextrakt von R. 39 (R. 48 subcutan und intravenös, R. 49 subcutan) nachgeimpft. R. 49 war bis zum 12. XII. gesund und wurde an diesem Tage getötet, R. 48 zeigte bis 30. XII., an welchem Tage auch dieses Tier getötet wurde, keinerlei Erscheinung.

Zusammenfassung des Versuches 1: Allem Anschein nach ist also eine zweifache Passage des infektiösen Agens durch subcutane bzw. subcutane und intravenöse Verimpfung von Leberbrei der an perzinöser Anämie verendeten Ratte auf das entmilzte und nach der Entmilzung gesund gebliebene Tier R. 39 und von diesem auf R. 52 und R. 46, die die Splenektomie anscheinend ebenfalls ohne Schaden überstanden hatten, gelungen. Die milzhaltigen gesunden Tiere R. 53, 48 und 49 erwiesen sich bei dem gleichen Eingriff refraktär. Die Zeitspanne zwischen Splenektomie und der Erkrankung beim Ausgangstier bzw. zwischen Verimpfung des Leberextraktes und der tödlichen Krankheit in der Passage beträgt 5 bzw. 8, 6 und 14 Tage. Die folgende Tabelle ergibt eine übersichtliche Darstellung des Versuches.

R 47

Splenektomie. Nach 5 Tagen Tod. Anämie.

R 39 (*Splenektomie, 18 Tage ohne Schaden überstanden*)

Subcutan inj. von Leberbrei

R 53 (milzhaltig)

Subcutan inj. von Leberbrei
bleibt gesund

Tod nach 8 Tagen.

R 52 (*Splenekt. 11 Tage ohne Schaden überstanden*)

Leberbrei subc. u. intrav.
nach 6 Tagen Anämie

R 46 (*Splenekt. 14 Tage ohne Schaden überstanden*)

Leberbrei subcutan
nach 14 Tg. Anämie u. Exitus

R 48 (milzhaltig)

Leberbrei subc. u. i. v.
bleibt gesund

R 49 (milzhaltig)

Leberbrei subc.
bleibt gesund

II.

Diese Versuchsreihe nimmt ihren Ausgangspunkt von dem 6 Tage nach der Entmizlung im Stadium der Anämie getöteten Tiere R. 51.

Es gelingt, durch *intraperitoneale* Einspritzung des Leberbreies eines unter den Symptomen der perniziösen Anämie zugrunde gegangenen splenektomierten Tieres ein die Splenektomie 19 Tage gesund überlebendes Tier R. 40 krankmachend zu infizieren. Eine weitere Passage auf ein Tier (R. 22), welches 4 Monate vorher nach Splenektomie die Krankheit überstanden hatte, gelingt nicht. Auch die milzhaltigen Tiere R. 56, 57, 62 und 63 verhalten sich gegen die Impfung refraktär. Bei R. 40 ist eine Inkubationszeit von 9 Tagen zu beobachten.

Ein Übersichtsschema möge den Versuch erläutern:

R 51

Splenektomie. Nach 4 Tagen Anämie. Getötet.

R 40 (*Splenektomie. 19 Tage ohne Schaden überstanden*)

Leberbrei intraperit.

R 56 (milzhaltig)

Leberbrei subc. u. intrav. Leberbrei intraperit.
bleibt gesund bleibt gesund

Nach 9 Tagen Anämie. Getötet.

R 22 (*nach Splenektomie. Anämie überstanden*).

Leberbrei subc. u. intrav.
bleibt gesund

R 62 (milzhaltig)

Leberbrei subc. u. intrav. Leberbrei intraperit.
bleibt gesund bleibt gesund

Aus diesen beiden Versuchsreihen ergibt sich also, daß es gelingt, bei einem Tier, welches die Milzextirpation symptomlos überstanden hat, durch eine intraperitoneale, subcutane oder subcutan und intravenöse Injektion von Leberbrei eines unter den Zeichen der perniziösen Anämie eingegangenen oder erkrankten Tieres das Krankheitsbild der perniziösen Anämie in der Passage hervorzurufen. Daß die Krankheit in der Passage mit der des Ausgangstieres übereinstimmt, ergibt sich aus dem Verlauf der Krankheit, dem Blutbefund und der histologischen

Veränderung der Organe der Passagiertiere. Ein Tier, welches die perniziöse Anämie nach der Splenektomie spontan erworben und überstanden hatte, erwies sich ebenso wie milzhaltige Tiere gegen eine Verimpfung von virulenten Leberbrei refraktär. In einem der Versuche ist eine zweifache Passage gelungen.

Gegen alle diese Passage-Versuche läßt sich aber ein schwerer Einwand erheben. Sehen wir nämlich an der Hand der Versuchsprotokolle nach, wieviel Tage nach der anscheinend symptomlos verlaufenden Entmilzung die Ratten unter den Zeichen der perniziösen Anämie erkrankten, wobei wir also die Impfung mit Leberbrei nicht berücksichtigen, so ergibt sich folgendes:

In der ersten Versuchsreihe erkrankt R. 39 26 Tage nach der Splenektomie; es hatte die Splenektomie 18 Tage symptomlos überstanden und erkrankte nach der Verimpfung von Leberextrakt von R. 47 nach weiteren 8 Tagen. R. 52 erkrankte nach 17, R. 56 nach 28 Tagen, bei R. 40 der zweiten Versuchsreihe liegen zwischen der Splenektomie und der Erkrankung 28 Tage.

Ich habe nun eingangs bei Beschreibung der Allgemeinerscheinungen zeigen können, daß Ratten gelegentlich, wenn auch selten, erst 30 Tage nach der Milzentfernung spontan erkranken, und es lag daher die Möglichkeit vor, daß die Passagiertiere in den Versuchen 1 und 2 nicht an den Folgen der Nachimpfung mit Leberextrakt, sondern an den Folgen der Splenektomie an sich erkrankt waren. Die Anlage der Versuche war also zum Nachweis der Möglichkeit einer Passage eine fehlerhafte. Die bisher mitgeteilten Versuche wurden eben zu einer Zeit angestellt, als mir Späterkrankungen nach Splenektomie noch nicht bekannt waren. Nichtsdestoweniger muß gesagt werden, daß die Annahme einer Späterkrankung in diesen Versuchen sehr an Wahrscheinlichkeit verliert, wenn man einerseits berücksichtigt, wie selten eine Spontanerkrankung nach mehr als 15 Tagen nach der Splenektomie beobachtet wird und wenn man andererseits sieht, daß sämtliche Tierspassageversuche ohne Ausnahme prompt gelangen. Aber es muß doch zugestanden werden, daß diesen Versuchen eine unbedingte Beweiskraft nicht zukommt, und es war daher notwendig, unter Berücksichtigung der spontanen Späterkrankung diese Versuche zu wiederholen. Dies geschah in folgender Versuchsreihe, die ich ihrer Wichtigkeit halber ausführlich wiedergeben möchte.

Ausgangspunkt dieser Passagereihe bildet R. 111. Das Tier wird am 19. I. 1925 entmilzt. 21. I. Blutbefund normal, 25. I. Erythrocytenzahl 6 950 000; Blutmorphologisch o. B. 27. I. E. 6 850 000; Blutmorphologisch o. B. 29. I. E. 7 200000 Blutmorphologisch o. B. Das Tier ist bisher anscheinend vollkommen gesund. 31. I. Das Tier ist schwer krank, röhrt sich kaum, sieht blaß aus, Hämoglobinurie. Am Abend wird das Tier tot gefunden. Unmittelbar nach dem Tode wird aus der Schwanzvene folgender Blutbefund erhoben: E. 1 080 000; morphologisch:

Anisocytose, Megaloscytose, Polychromasie. Neutrophile Leukocytose, zahlreiche degenerative Monocytenformen, Erythrophagocytose. Obduktion: Leber weich, groß, morsch, gelb. Niere dunkelrot. Leberbrei von diesem Tier wird auf R. 97 und 100 überimpft, welche gleichzeitig mit R. 98 und 99 am 1. I. 1925, also vor einem Monat, splenektomiert worden waren und die Operation ohne Schaden überstanden hatten; R. 99 wird mit gekochtem, also voraussichtlich avirulentem Leberbrei gespritzt; R. 98 wird nicht geimpft und dient als Kontrolltier.

R. 97. 1. I. E. 7 500 000; morphologisch o. B. Entmilzung. Wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist, bleibt der Blutbefund bis zum 31. I. annähernd normal. 31. I. Einspritzung von Leberbrei von R. 111, und zwar intraperitoneal, intravenös und subcutan. Bis zum 5. II. bleibt der Blutbefund annähernd normal, am 7. II. zeigt das Tier leichte Allgemeinerscheinungen. E. 5 060 000. Leukocytenblutbild siehe später. 8. II. Schwere Allgemeinerscheinungen. E. 1 190 000. Perniziös anämisches erythrocytäres Blutbild. Abends Exitus. Obduktion: Leber in charakteristischer Weise verändert. Nieren dunkelrot. Galliger Dünndarminhalt, hämorrhagischer Blasenharn.

Großes Interesse beansprucht das Leukocytenblutbild dieser Tiere, insbesondere der Vergleich derselben vor der Splenektomie, vor der Einspritzung des Leberbreies, am Tage vor und am Todestage.

Datum	Lymphocyten	Monocyten	Fragl. Zellen	Neutroph. Zell.	Eosinoph. Zell.
1. I.	42%	5,6%	0,5%	47,9%	4,0%
Splenektomie.					
7. I.	70%	10,0%	—	18,0%	2,0%
31. I.	40%	11,5%	—	43,0%	5,5%
Einspritzung von virulentem Leberbrei.					
7. II.	40,6%	7,4%	3,6%	44,4%	4,0%
8. II.	15,7%	7,0%	3,0%	72,6%	1,7%

Wir haben es also hier mit einem Tier zu tun, welches schon vor der Splenektomie eine verhältnismäßig hohe Neutrophilie aufwies. Unmittelbar vor dem Tode beginnt die Zahl der neutrophilen Zellen aber noch stark anzusteigen, um am Todestage 72,6% zu erreichen; wir haben hier gleichartige Verhältnisse vor uns wie bei Tieren, welche nach der Splenektomie natürlich an perniziöser Anämie erkrankten. Die unmittelbar nach der Splenektomie auftretende, aber flüchtige Lymphocytose ist in diesem Zusammenhange nicht von Interesse.

R. 100. 1. I. Splenektomie. Das Tier bleibt, siehe die spätere Tab. IV, bis 31. I. gesund. 31. I. Einspritzung in Bauchhöhle, Venen und unter die Haut von Leberbrei von R. 111 in der gleichen Dosis wie bei R. 97. Bis zum 5. II. bleibt der Blutbefund normal. Am 8. II. leichte Allgemeinerscheinungen, leichte Atemnot E. (5 000 000; Morphologisch perniziös-anämisches Blutbild, neutrophile Leukocytose, Monocytose, Erythrophagocytose. 9. II. Schwere Allgemeinerscheinungen, Hämaturie, E. 1 380 000, Blutbild morphologisch wie am Tage vorher. Bei der Obduktion charakteristische Veränderungen der Organe.

R. 99. 1. I. E. 8 500 000; morphologisch o. B. Die Erythrocytenzahlen bleiben bis am 31. I. annähernd auf gleicher Höhe. 31. I. Injektion von durch 5 Minuten gekochtem Leberbrei von R. 111, und zwar intraperitoneal, intravenös und subcutan in der gleichen Dosis wie bei R. 97 und R. 100. Das Tier bleibt gesund, siehe die folgende Tabelle.

R. 98. Das Tier war gleichzeitig mit R. 97, 99 und 100 am 1. I. splenektomiert worden und blieb während der Beobachtung bis 20. III. dauernd gesund.

Tabelle IV.

Datum	Erythrocytenzahl der Ratte Nr.				
	97	100	99	98	
	in Millionen.				
1. I. 1925	7,5	—	8,5	8,7	
5. XII. 24	6,9	—	schätzungsw. normal	9,2	
7. 24	schätzungsw. normal	9,0	schätzungsw. normal	—	
10. 24	6,9	8,8	8,3	7,7	
20. 24	7,5	7,5	6,7	7,0	
25. 24	7,9	8,0	6,6	7,0	
27. 24	7,9	7,6	6,5	7,05	
31. 24	7,9	7,1	7,25	7,1	
1. I. 25	Inj. v. frisch. Leberbrei	Inj. v. frisch. Leberbrei	Inj. v. gekocht. Leberbr.		
2.	7,0	7,0	5,0		
4.	6,7	6,0	6,4	8,1	
5.	6,2	7,5			
7.	5,0		6,4		
8.	1,1 Exitus	5,0	7,0	8,2	
9.		1,4 Exitus			
12.			6,5		
24. II. 25				7,2	
15. III. 25				7,3	

Von R. 100 wird eine weitere Passage mit Leberbrei auf 4 Tiere angelegt, und zwar R. 96, welches am 21. XII. splenektomiert worden war und nicht erkrankte auf R. 52 und 76, welche längere Zeit vorher nach Splenektomie die perniciöse Anämie überstanden hatten, und auf das milzhaltige Tier 121.

Diese Passagen von R. 100 verliefen folgendermaßen:

R. 96. 21. XII. Splenektomie. 22. XII. E. 7 000 000. Die Erythrocytenzahl bleibt bis zum 9. II. annähernd auf gleicher Höhe, an diesem Tage werden 6 200 000 gezählt. Hierauf Einspritzung von Leberbrei von R. 100, und zwar in Bauchhöhle, Venen und unter die Haut. 12. II. E. 6 150 000. 14. II. 6 400 000; morphologisch Blut o. B. 17. II. Schwere Allgemeinerscheinungen, Hämaturie, E. 870 000. Perniziös-anämisches Blutbild, Monocytose mit degenerativen Monocytiformen, neutrophile Leukocytose. Das Tier wird getötet. Obduktion: Leber groß, weich, gelb, Blasenharn hämorragisch. Serum hämolytisch, Nieren dunkelrot.

Die Veränderung im leukocytären Blutbild zeigt die folgende Tabelle:

Datum	Lymphocyten	Monocyten	Fragl. Zellen	Neutroph. Zell.	Eosinoph. Zell.
21. XII. <i>Splenektomie.</i>					
22. XII.	64,0%	4,5%	—	25,0%	6,5%
29. XII.	44,0%	10,0%	—	44,5%	3,5%
2. I.	43,0%	4,0%	—	48,0%	5,0%

Einspritzung von virulentem Leberbrei.

17. II.	12,5%	6,5%	—	78,0%	1,0%
---------	-------	------	---	-------	------

Wir sehen auch hier wieder ein sehr starkes Ansteigen der neutrophilen Leukozyten, gleichzeitig mit dem Einsetzen der Anämie.

R. 52. Entmilzt am 28. X. Bis zum 9. XI. gesund. Unter die Haut und in die Venen mit Leberextrakt von R. 39 geimpft. 15. I. Anämie, E. 2 520 000; perniziös-

anämisches erythrocytäres Blutbild. 19. XI. E. 2 135 000. 26. XI. E. 5 040 000. 16. XII. E. 6 130 000. 9. II. E. 8 050 000. Injektion von Leberbrei von R. 100 intraperitoneal, intravenös und subcutan. Das Tier bleibt während der Beobachtung bis zum 6. III. gesund.

R. 76. 25. XI. Entmilzung. Das Tier erkrankt am 28. XI. unter Allgemeinerscheinungen und Anämie. Am 1. XII. ist die Zahl der Erythrocyten auf 1 420 000 gesunken; perniziös-anämisches erythrocytäres Blutbild. Das Tier erholt sich langsam; am 2. II. werden 6 500 000 E. gezählt. Das Tier bleibt nach der Injektion von Leberbrei von R. 100 nach intravenöser, subcutaner und intraperitonealer Applikation in gleicher Dosis wie bei den Tieren des gleichen Versuches während der Beobachtung bis zum 1. III. gesund.

R. 121. Gesundes milzhaltiges Tier.

9. II. Intraperitoneale, intravenöse und subcutane Injektion von Leberbrei von R. 100 wie oben. Das Tier bleibt dauernd gesund.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über diese zweite Versuchsreihe.

R 111				Kontrolle
12 Tage nach Splenektomie. Anämie und Exitus.				
R 100 (<i>Splenekt.</i>)	R 97 (<i>Splenekt.</i>)	R 99 (<i>Splenekt.</i>)	R 98 (<i>Splenekt.</i>)	
1 Monat ohne Schaden überstanden)	1 Monat ohne Schaden überstanden)	1 Monat ohne Schaden überstanden)	1 Monat ohne Schaden überstanden)	
Inj. v. frisch. Leberbrei	Inj. v. frisch. Leberbrei	Inj. v. gek. Leberbrei		
Nach 9 Tagen Anämie und Exitus	Nach 8 Tagen Anämie und Exitus	gesund		gesund
R 96 (<i>Splenekt.</i>)	R 52 (<i>Vor ca. 1 Monat 50 Tage ohne Schaden überstanden)</i>)	R 76 (<i>Vor 5 Wochen Anämie n. Inj. v. virul. Leberbrei überstanden)</i>)	R 121 (<i>milzhaltiges Tier</i>)	
Inj. von Leberbrei	Inj. von Leberbrei	Inj. von Leberbrei	Inj. von Leberbrei	
Nach 8 Tagen Anämie; getötet	gesund	gesund	gesund	

Aus dieser Versuchsreihe geht also hervor, daß das krankmachende Agens, welches wir im Leberbrei von R. 111 annehmen, auf 2 splenektomierte, nach der Entmilzung gesund gebliebene Tiere R. 97 und R. 100 übertragbar war, wobei es als besonders bedeutsam bezeichnet werden muß, daß beide Tiere nach fast ganz gleicher Zeit erkranken und eingehen (8 bzw. 9 Tage). Kochen des Leberbreis vernichtet seine Wirksamkeit (siehe R. 99). Der Versuch zeigt aber auch, daß es gelingt, eine einwandfreie 2. Passage anzulegen, wobei es wieder als auffallend bezeichnet werden muß, daß der Tod des 2. Passagieres, R. 96, gleich lange Zeit nach der Impfung eintrat, wie bei R. 97 und 100, nämlich nach 8 Tagen. Tiere, welche die Anämie nach Splenektomie vor längerer Zeit spontan überstanden haben, erkranken bei der Nachimpfung nicht mehr (R. 52 und R. 76). Gegen diese beiden Passageversuche läßt sich nicht mehr der gleiche

Einwand, wie in der Reihe I und II erheben, daß nämlich das Auftreten der Anämie ursächlich auf die Splenektomie und nicht auf die Nachimpfung mit virulentem Leberbrei zurückzuführen ist: Der Umstand, daß die mit frischem Leberbrei nachgeimpften Tiere, R. 100, 97 und 96, nach gleicher Zeit erkrankten und eingehen, während die beiden gleichzeitig splenektomierten Tiere, R. 99 und R. 98, von denen das eine mit gekochtem, daher wahrscheinlich avirulentem, das andere überhaupt nicht nachgeimpft wurde, gesund blieben, ferner die Tatsache, daß das längere Zeit vorher entmilzte Tier R. 96 in der zweiten Passage ebenfalls nach gleichlanger Zeit nach der Nachimpfung (8 Tage) erkrankt, wie die Tiere der ersten Passage, müssen Zweifel in dieser Hinsicht zerstreuen.

Der in diesen letzten Versuchen einwandfrei gelungene Nachweis einer mehrfachen Tierpassage zwingt zur Annahme, daß der perniziösen Anämie der Ratte nach Splenektomie ein infektiöses Agens zugrunde liegt; und wenn wir an der Lehre festhalten, wonach die Übertragbarkeit einer Krankheit in der Passage einen Beweis für die lebende Natur des Erregers darstellt, so müssen wir auf Grund unserer Versuche schließen, daß die perniziöse Anämie der Ratte eine Infektionskrankheit ist, die auf eine Infektion mit einem lebenden Virus zurückzuführen ist¹⁾.

VIII. Erörterung der Befunde.

Ohne Berücksichtigung der Frage, warum es bald nach der Entmilzung zum Ausbruch dieser Infektionskrankheit kommt, wollen wir nachsehen, ob und wie sich alle an splenektomierten Ratten beobachteten Erscheinungen mit dem Gedanken einer Infektion vereinen lassen.

Es erkranken, wie ich früher gezeigt habe, nach der Entmilzung nicht alle Tiere. Dies kann entweder darauf zurückzuführen sein, daß nicht alle Tiere infiziert sind, oder aber darauf, daß einige Tiere gegen diese Infektion eine natürliche Immunität besitzen. Diese letzte Möglichkeit kann aber ausgeschlossen werden, da ja nachgewiesen werden konnte, daß Ratten, welche die Milzentfernung ohne Schaden vertragen hatten, nach Infektion mit Leberbrei eines erkrankten Tieres doch regelmäßig erkranken. Es wäre nur denkbar, daß auch diese Tiere unmittelbar nach der Splenektomie infiziert waren, daß der Erreger in diesen Fällen aber zu wenig virulent bzw. in zu geringer Menge vorhanden war, und daß erst die stärkere experimentelle Infektion zur Erkrankung führte. Dieser Gedankengang erscheint aber gezwungen. Wir werden also damit rechnen müssen, daß nur ein Teil der Ratten nach der Splenektomie infiziert ist.

¹⁾ Luger hat in einer Diskussionsbemerkung zu meinem Vortrag über dieses Thema in einer Sitzung der Vereinigung der pathol. Anatomie Wiens die Nomenklatur „perniziöse Anämie der Ratte“ unter Hinblick auf die in der Humanmedizin gebräuchliche Nomenklatur „Perniziöse Anämie“ abgelehnt. In Würdigung der von ihm vorgebrachten Argumente stehe ich auf Grund der obigen Ausführungen nicht an, die von mir vorgeschlagene Bezeichnung in „Infektiöse (perniziöse) Anämie der Ratte“ abzuändern.

Wann infizieren sich die Ratten? Daß die Tiere im Laufe der Operation mit einem exogenen Virus infiziert würden, erscheint unter Hinblick auf die streng aseptischen Vorsichtsmaßregeln während der Operation als unwahrscheinlich. Wir müssen wohl annehmen, daß die Ratten, welche nach dem Eingriff erkranken, das Virus bereits früher als unschädlichen Saprophyten beherbergen und daß dieser Erreger erst nach der Splenektomie aktiv ist. Es handelt sich also allem Anschein nach um *ein endogenes Rattenvirus*, welches eine Reihe von Tieren beherbergt.

Wenn wir den Zeitpunkt der Splenektomie mit dem Zeitpunkt der Infektion gleichsetzen, so dürfen wir die Zeitspanne zwischen Splenektomie und Beginn der Allgemeinerscheinungen als Inkubationszeit betrachten. Bei einer Durchsicht der Versuchsprotokolle mit Berücksichtigung dieser „Inkubationszeiten“ muß aber das starke Schwanken dieser Inkubation auffallen. Während sie in den meisten Fällen, wie gezeigt, zwischen 3 und 11 Tagen schwankt, beobachteten wir gelegentlich auch Inkubationen von längerer Dauer bis zu 30 Tagen. Wenn wir nun berücksichtigen, daß diejenigen Ratten, welche ohne Schaden splenektomiert und später durch Verimpfung von virulentem Leberbrei infiziert wurden, in allen bisher durchgeführten Versuchen eine Inkubation von durchschnittlich 8 Tagen zeigen, so erscheint mir die Annahme doch viel wahrscheinlicher, daß die Verhältnisse bei den Späterkrankungen nach Entmilzung so liegen dürften, daß die Tiere zur Zeit der Splenektomie noch nicht infiziert waren, die Operation daher gut überstanden und sich erst in einem späteren Zeitpunkt infizierten.

Über die Art der Spätinfektionen von Tieren, welche nach der Entmilzung vorerst gesund geblieben waren, kann ich nur Vermutungen äußern, da ich genauere experimentelle Untersuchungen diesbezüglich noch nicht angestellt habe. In Analogie zur perniziösen Anämie der Pferde, auf die ich noch zu sprechen komme, vermute ich, daß sich die Tiere per os anstecken. Liegen bei der Krankheit der Ratte die gleichen Verhältnisse vor, wie bei der des Pferde, so wären auch hier Harn und Stuhl hochgradig infektiös, und es wäre daher in einem Laboratorium, in welchem sich erkrankte und nicht erkrankte Tiere befinden, leicht die Möglichkeit gegeben, daß sich die Tiere gegenseitig infizieren. Die Infektiosität der Krankheit scheint eine sehr hochgradige zu sein, so daß alle Autoren, die überhaupt berichteten, daß die Ratten die Splenektomie nicht gut überstehen, und allem Anschein nach infiziertes Rattenmaterial vor sich hatten, auch angeben, daß ein sehr hoher Prozentsatz von Tieren erkrankt. Als Beweis dafür, daß es wenigstens bei einer Reihe von Tieren erst nach der Splenektomie, bald früher, bald später zur Infektion kommt, scheint mir die Beobachtung zu dienen, daß in späteren Versuchen, in welchen die Ratten in Einzelkäfigen gehalten wurden, der Prozentsatz der Erkrankung der Tiere

ein niedrigerer war. Die früher erwähnte auffällige Tatsache, daß die Ratten des gleichen Stalles nach gleichlanger Inkubation erkranken, ist mit der Annahme wohl zu erklären, daß die Tiere des gleichen Stalles die Träger des gleichen Stammes sind. Daß dem gleichen Stamm eine annähernd gleiche Inkubation zukommt, daß die Dauer der Inkubation also hauptsächlich vom Erreger und nicht von der Ratte abhängt, geht auch mit größter Wahrscheinlichkeit aus den Übertragungsversuchen hervor, in welchem die Inkubationsdauer bei Verwendung des gleichen Stammes zur Passage entweder nur in geringem Ausmaße schwankt oder wie in den letzten Versuchen gleichbleibt.

Die Frage nach der natürlichen Eintrittspforte des Erregers bzw. nach den Organen, in welchem das Virus zur Zeit der Splenektomie zu suchen wäre, kann vorerst nicht entschieden werden. Da eine orale Infektion möglich ist, könnte der Sitz des Virus in den Magen-Darmkanal verlegt werden.

Auch die Natur und die Eigenschaften des Virus habe ich vorläufig nicht näher erforscht. Da weder im Blut, noch in Organausstrichen, noch histologisch irgendein Befund erhoben werden konnte, der als der morphologische Ausdruck des Virus hätte angesprochen werden können, und da auch Untersuchungen im Dunkelfeld in einer Reihe von Fällen zu einem negativen Ergebnis führten, ist die Annahme berechtigt, daß es sich wahrscheinlich um ein filtrierbares Virus handeln dürfte. Diesbezügliche Versuche, ebenso wie Untersuchungen über die Glycerinfestigkeit des Virus sind im Gange¹⁾.

Für die Lokalisation des Angriffspunktes des Virus gibt uns die Blutuntersuchung und das Studium der histologischen Veränderungen der Organe Anhaltspunkte. Wir haben gesehen, daß eine überaus foudroyant einsetzende Phagocytose in einer Reihe von Fällen, in welchen eine Hämoglobinämie bzw. Hämoglobinurie nicht beobachtet werden konnte, die einzige, wenn auch sekundäre Ursache der schweren Anämie ist. Wenn wir nun von einer mittelbaren Auslösung dieser Phagocytose, die ich noch kurz berühren werde, absehen, so könnte das Virus zweierlei direkte Angriffspunkte haben: Es könnte sich an den Blutkörperchen verankern, diese schädigen und in dem Sinne verändern, daß sie den Freßzellen zum Opfer fallen müssen. Die Retikuloendothelialzellen würden dann nur sekundär übermäßig in Funktion treten, sekundär erkranken, sich abstoßen und eventuell auch als Erythrophagen im strömenden Blute erscheinen, und es würde dieser Mechanismus der Blutzerstörung jenem gleichzusetzen sein, welchen *Austin* und *Pearce* an entmilzten Tieren nach Einspritzung von Hämolysin gesehen haben. Der Erreger könnte aber auch unmittelbar an den Phagocyten angreifen und

¹⁾ Nachtrag bei der Korrektur: Zahlreiche inzwischen durchgeführte Filtrationsversuche hatten ein negatives Ergebnis.

diese zu pathologisch gesteigerter Funktion anregen, oder es könnten schließlich auch beide Möglichkeiten gleichzeitig zutreffen. Die früher erwähnte mittelbare Auslösung der Phagocytose könnte man sich z. B. so vorstellen, daß das Virus irgendwo im Organismus die Bildung eines hämolytischen Ambozeptors anregt, der sekundär zur Hämolyse führt; die Phagocytose wäre dann wieder eine sekundäre. Wenn wir also in den Fällen, in welchen eine Hämoglobinämie bzw. eine Hämoglobinurie nicht bestand, mit der Vorstellung der Verankerung des Virus an die Retikuloendothelialzellen das Auslangen finden können, so muß doch bei den Tieren, bei welchen es zu einer intravasalen Hämolyse, zur Hämoglobinämie kommt, eine direkte Schädigung der Erythrocyten angenommen werden. Es sei denn, daß das Virus primär an den Retikuloendothelialzellen angreift und diese zur Bildung von hämolytischen Stoffen, welche in das Blut abgegeben werden, anregt. Die Hämoglobinurie muß bei bestehender Hämoglobinämie wohl als Begleitsymptom der intravasalen Hämolyse aufgefaßt werden. Ob in den Fällen, in welchen eine Hämoglobinurie bestand, eine Hämoglobinämie aber mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden konnte, die Hämoglobinurie auf eine Hämolyse in der Niere selbst zu beziehen ist oder ob in diesen Fällen, und dies möchte mir wahrscheinlicher erscheinen, die Hämoglobinämie nur zu gering war, als daß sie im Serum mit freiem Auge hätte erkannt werden können, müssen spätere einwandfreie Untersuchungen klarstellen. Wir sind vorläufig wohl zur Annahme gezwungen, daß das Blut selbst den wichtigsten unmittel- oder mittelbaren Angriffspunkt der Infektion darstellt. Vielleicht hat die pathologisch übermäßig gesteigerte Erythrophagocytose auch ihre Ursache in der Splenektomie an sich, da ja die Entfernung der Milz den übrigbleibenden Teil des retikulo-endothelialen Systems zu erhöhter Tätigkeit anregen könnte. Wie wir sehen werden, spielt aber dieser Reizzustand des r.-e. S. nur eine untergeordnete Rolle.

Mit wenigen Worten sei noch auf folgende Fälle hingewiesen: Wir haben gesehen, daß die Erythrocytenzahl nach der Splenektomie gelegentlich langsam um Weniges sinkt. Derartige Fälle, z. B. R. 99 und 100, könnten als abortive Fälle aufgefaßt werden. Dem muß aber entgegengehalten werden, daß z. B. bei R. 100 eine Nachimpfung mit virulentem Leberbrei krankmachend gewirkt hat, daß sich dieses Tier also gegen eine Infektion nicht refraktär erwiesen hat. Und wir haben doch gesehen, daß bei Tieren, welche die Krankheit einmal überstanden haben, eine neuerliche Infektion nicht angeht, daß also einmaliges Überstehen der Krankheit Immunität auslöst.

Die drei durchgeföhrten *Immunitätsversuche* wurden in den einzelnen Protokollen bereits kurz erwähnt und beanspruchen keine weitere Besprechung.

Ich habe zu meinen Übertragungsversuchen, aus Gründen, die ich früher auseinandergesetzt habe, Leberbrei benutzt. Es erscheint mir jedoch keinem Zweifel zu unterliegen, daß es sich bei der in Rede stehenden Krankheit um eine Allgemeininfektion handelt, und daß es wohl auch gelingen müßte, mit Blut, Harn, Serum oder mit Extrakten anderer Organe eine Passage durchzuführen. Auch derartige Versuche sind noch ausständig¹⁾. Schließlich sei noch hervorgehoben, daß die neu gewonnene Vorstellung, daß es sich bei der perniiziösen Anämie der Ratte nach Splenektomie um eine Infektionskrankheit handelt, die schweren degenerativen nekrobiotischen Veränderungen an der Leber verständlich erscheinen läßt. Dieser Punkt soll in der angekündigten histologischen Arbeit eingehend dargestellt werden.

Als die perniziöse Anämie der Ratte als Infektionskrankheit erkannt war, lag es naturgemäß nahe zu versuchen, die Krankheit auch auf andere Tiere zu übertragen. Die Überimpfung auf splenektomierte Tiere schien die größte Aussicht auf Erfolg zu gewährleisten. In einer bisher wohl nur geringen Anzahl von Versuchen an Kaninchen und weißen Mäusen hatte ich aber ein negatives Ergebnis zu verzeichnen; sowohl entmilzte wie milzhaltige Tiere verhielten sich gegen die Verimpfung mit virulentem Leberbrei refraktär.

IX. Die Bedeutung der Milz, bzw. der Entmilzung für die Infektion. Übertragung auf milzhaltige Tiere.

Es konnte früher gezeigt werden, daß die Versuche von *Domagk*, die nach Milzentfernung auftretende Anämie der Ratte als Folge des Ausfalls des retikuloendothelialen Systems und als Überfunktion des übrigbleibenden Teiles desselben zu deuten, zu keinem befriedigenden Ergebnis geführt haben. Da wir jetzt glauben, daß der Krankheit eine Infektion zugrunde liegt, ist uns, wie ich glaube, der ursächliche Zusammenhang zwischen Splenektomie und der ihr folgenden infektiösen Anämie verständlicher geworden. Kennen wir doch die große Bedeutung, welche die Milz bei Infektionskrankheiten spielt. Ich möchte bei der Besprechung dieser Frage die Beziehung von Milz zur Infektion an der Hand der Literatur nur insoweit beleuchten, als die Milz bei der Haftung oder Nichthaftung eines Erregers eine Rolle spielt. Mit wenigen Worten werde ich die Stellung der Milz in immunbiologischer Beziehung streifen.

Die Bedeutung der Milz für die Haftung einer Infektion wurde in der Weise studiert, daß der Ablauf einer gleichartigen experimentellen Infektion am entmilzten und nicht entmilzten Tier verfolgt wurde. *Bardach* konnte auf diese Weise zeigen, daß von 25 splenektomierten mit Milzbrand infizierten Hunden 19 der künstlichen Infektion erlagen, während von 25 Kontrollhunden nur 5 eingingen. Ähnliche Ergebnisse erhielten er und *Marzei* in Versuchen mit Kaninchen. Nachuntersuchungen anderer Autoren aber, wie *Kurlow*, *Melnikow-Rasnedenkow*,

¹⁾ *Nachtrag bei der Korrektur:* Der experimentelle Nachweis der Infektiosität des Blutes erkrankter Tiere ist inzwischen gelungen.

Martinotti-Barbacci, Blumreich und Jakoby, konnten den Befund nicht bestätigen, *Sirena* konnte sogar das Gegenteil finden. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß diese Autoren an einem anderen Tiermaterial, Kaninchen und Meerschweinchen, arbeiteten und die Tiere nicht intravenös, sondern subcutan und mit anderen Bakterien infizierten.

Es haben übrigens schon *Blumreich* und *Jakoby* und *Mazzei* darauf hingewiesen, daß der Milz für den Ablauf einer vorwiegend bakteriell bedingten Infektion gewiß eine große Bedeutung zukomme, daß ihr eine solche aber bei Infektionen, bei denen es zur Vergiftung mit Toxinen kommt (Diphtherie, Tetanus), nicht beizumessen ist. Es ist das Verdienst von *Bieling*, das von den verschiedenen Autoren gesammelte Tatsachenmaterial über die Bedeutung der Milz bei bakteriellen Infektionen geordnet und kritisch gesichtet zu haben. Der Autor kommt zur Überzeugung, daß die „in die Blutbahn selbst eingebrachten Bakterien bei erhaltener Milz in ihrer Virulenz derart geschädigt werden können, daß sie sich im Gewebe nicht ansiedeln und vermehren können und der dadurch bedingte sekundäre Einbruch in die Blutbahn mit der anschließenden tödlichen Sepsis von vornherein verhindert wird.“ Anders liegen die Verhältnisse, nach *Bieling*, wenn man bei der Infektion bereits künstlich einen Ansiedlungsherd im Gewebe außerhalb der Blutbahn setzt, da sich hier unabhängig von der Milz ein Krankheitsherd entwickelt. „Dem von hier ausgehenden sekundären Masseneinbruch in die Blutbahn gegenüber ist die Milz machtlos.“ Während die Untersuchungen von *Soudakewitsch* über Recurrensinfektionen an entmilzten und nicht entmilzten Affen nicht eindeutig ausgefallen sind und die Versuche von *Tictin* an entmilzten Affen ergaben, daß die Entmilzung bei der Recurrensinfektion keine Rolle spielt, so verdienen die experimentellen Untersuchungen von *Gonder* und *Rodenwald*, welche sich mit der Bedeutung der Milz bei Plasmodieninfektionen befassen, hier hervorgehoben zu werden. Sie impften entmilzte und nicht entmilzte Affen mit Affenmalaria; während das Plasmodium Kochi für nicht entmilzte Tiere nur wenig krankmachend war, zeigt es für entmilzte Tiere eine bedeutend höhere Pathogenität.

Aus der angeführten Literatur ergibt sich, daß der Milz unter Umständen für den Ablauf der Infektion und auch für das Haften der Infektion eine bedeutsame Rolle zukommen kann.

Schließlich muß noch die Frage aufgeworfen werden, ob nicht der Fortfall der Milz als immunbiologischer Faktor, als eine der wichtigsten Bildungsstätten der Antikörper für das Auftreten oder wenigstens für die Schwere der Rattenkrankheit nach Milzentfernung ursächlich in Betracht kommen könnte. Es ergeben sich hier zwei Möglichkeiten: Die nach der Splenektomie erkrankenden Tiere waren nicht nur Keimträger, sondern sie waren schon vor der Entmilzung infiziert; durch eine entsprechend kräftige Antikörperbildung kam aber die Krankheit vor der Splenektomie nicht zum Ausbruch. Würden die Verhältnisse tatsächlich so liegen, so wäre auch eine Erkrankung nach der Splenektomie durchaus unverständlich, denn es würde sich um hoch immune Tiere handeln, und es ist nicht gut vorstellbar, daß die einmal erworbene Immunität durch die Entmilzung schwindet. Wir wissen auch aus einer Reihe von Arbeiten, daß nicht nur die Milz, sondern wahrscheinlich das ganze retikuloendotheliale System an der aktiven Immunisierung beteiligt ist, und es ist durchaus unwahrscheinlich, daß das hoch sensibili-

sierte R.-E.-S. bei Fortfall der Milz nicht genügen würde, um weiter der Infektion Herr zu werden. Daß auch die entmilzten Tiere über genügend Schutzkräfte verfügen können, die das Auftreten der Krankheit verhindern, beweist übrigens die Tatsache, daß entmilzte Tiere, welche die Krankheit einmal überstanden haben, für eine neuerliche Infektion unempfänglich sind. Die zweite Möglichkeit einer mangelhaften Abwehrfunktion der Milz in immunbiologischer Hinsicht könnte dadurch gegeben sein, daß der Organismus nach Haften des Virus am entmilzten Tier wegen Fehlens des wichtigsten antikörperbildenden Organs nur ungenügend Abwehrstoffe liefern kann. Diese Möglichkeit, die an sich schon nur eine untergeordnete Rolle spielen kann, könnte für die Schwere der Erkrankung maßgebend sein; viel Bedeutung kommt ihr aber nicht zu, wie ich später noch werde zeigen können.

Die Bedeutung der Splenektomie liegt also nicht oder nur zum geringsten Teile in der Entfernung eines antikörperbildenden Organs, als vielmehr in der Entfernung eines Organes, welches die Haftung des Virus verhindert. Wie die Milz dieser Aufgabe nachkommt, darüber besitzen wir allerdings keine sichere Vorstellung. Es ist möglich, daß die Milz den Erreger in ihren Maschen abfängt und vernichtet; damit kann vielleicht die außerordentliche Größe der Milz gerade jener Tiere zusammenhängen, welche nach der Splenektomie erkranken (s. o.).

War die Vorstellung richtig, daß die Milz lediglich die Haftung des Virus verhindert und daß ihre Entfernung für den Ablauf der Infektion mehr oder weniger ohne Belang ist, so mußte das gleiche Krankheitsbild auch an der milzhaltigen Ratte hervorgerufen werden können, wenn es nur gelang, das Virus auf irgendeine Weise zur Haftung zu bringen. Wir haben gesehen, daß eine subcutane oder intravenöse oder intraperitoneale Einspritzung von virulentem Leberbrei nicht imstande war, ein Tier zu infizieren, d. h. die Widerstandskraft der Milz zu brechen. Es war aber denkbar, daß dies einerseits durch eine Herabsetzung der natürlichen Resistenz und andererseits durch eine besonders hohe Dosierung des Infektionsstoffes und eine besondere Applikationsart des Virus erreicht werden könnte. Dies gelang auch tatsächlich in folgender Versuchsanordnung: Die Tiere wurden mit sehr hohen Dosen infektiösen Leberbreies gespritzt, als Applikationsweg wurde die gleichzeitige subcutane, intravenöse, intraperitoneale und intrahepatale Injektion gewählt, und außerdem wurden die Tiere hungrig gelassen. Ich lasse das ausführliche Protokoll eines dieser Versuche folgen:

R. 101 hungert am 1. I. 1925. Am 2. I. wird das Tier mit dem Leberbrei von R. 83, welches 1 Monat nach der Splenektomie unter typischen Erscheinungen erkrankt war und eine schwere Anämie (E. 1 370 000 und perniziös-anämisches erythrocytäres Blutbild) und Hämoglobinurie zeigte und nach eintägiger Krankheit einging, auf folgende Weise geimpft. Das Tier wird in Äthernarkose laparotomiert und der Leberbrei wird mit einer feinen Injektionsnadel an mehreren

Stellen in die Leber eingespritzt. Der Bezirk um die Einspritzungsstelle wird unmittelbar danach blaß, man sieht wie das Blut während der Einspritzung aus diesen Leberanteilen verdrängt wird. Vor Vernähung der Laparotomiewunde wird 1 ccm Leberbrei in die freie Bauchhöhle eingespritzt. Schließlich bekommt das Tier noch eine Leberbreiinjektion unter die Haut und in die Schwanzvene. Das Tier erholt sich nach der Operation und ist in den folgenden Tagen munter. Es bekommt während der ersten 3 Tage nach der Operation nichts zu fressen, in der Folgezeit sehr wenig. Am 4. I. und am 5. I. ergibt der Blutbefund normale Werte. Am 7. I. sieht das Tier krank aus, es ist auffällig ruhig, Erscheinungen, welche auf den Hungerzustand hätten zurückgeführt werden können. Es mußte aber schon auffallen, daß der Blutbefund eine E.-Zahl von 4 690 000 und eine leichte neutrophile Leukocytose ergab. Am 8. I. zeigte das Tier die schweren Erscheinungen, wie ich sie bei den entmilzten Ratten beschrieben habe. Es besteht Hämoglobinurie. Der Blutbefund ergibt: 2 700 000 E. Im morphologischen Blutbild fällt auf, daß die Megalocytose, die Polychromasie und die Ausschwemmung von Normoblasten wohl vorhanden, aber nicht so deutlich wie bei entmilzten Tieren ist; hinsichtlich der monocyitären Elemente gleicht das Blutbild aber durchaus dem bei splenektomierten Tieren beobachteten. Es fanden sich reichliche, degenerative, vakuoliisierte, mononucleäre Elemente und zahlreiche Erythrophagen. Die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen war, soweit aus dem Ausstrich ein Urteil erlaubt ist, nicht wesentlich erhöht. Die Differentialzählung, bald nach der Splenektomie und während der schweren Anämie, ergab auch hier ein Steigen der Neutrophilen (60%) und ein Fallen der Lymphocyten (17%) bei ausgesprochener Mononucleose (16,5%).

Das Tier geht am 8. I. spontan ein. Obduktion: Große, weiche, leicht gelbliche Leber, dunkelrote Nieren, galliger Dünndarminhalt. Sehr große, weiche, dunkelrote Milz.

Der histologische Befund der Organe ergibt: Die Leber zeigt die charakteristischen Veränderungen: Erythrophagocytose in den Kupfferschen Zellen, Degeneration und Abstoßung dieser Zellen, herdförmige Leberzellnekrosen, wie sie früher beschrieben wurden, diffuse, wenn auch nicht sehr hochgradige fettige Degeneration der Leberzellen. Die Niere zeigt Veränderungen, wie sie früher für die Hämoglobinurie als charakteristisch geschildert wurden. *In der Milz hochgradigste Erythrophagocytose* in allen reticulo-endothelialen Elementen; ziemlich zahlreiche kleine Nekroseherde.

Eine weitere Passage mit Leberbrei von R. 101 auf das milzhaltige Tier R. 104 führte zu keinem eindeutigen Ergebnis.

Zwei weitere in ihrer Anlage übereinstimmende Versuche mit R. 104 und R. 117 fielen gleichsinnig aus.

Unter Berücksichtigung der Inkubationszeiten, ferner der bei den Tieren beobachteten Allgemeinerscheinungen, der Analyse des Blutbildes und des histologischen Befundes der Organe der verendeten Tiere kann es wohl keinem Zweifel unterliegen, daß es uns in diesen Versuchen gelungen ist, auch an milzhaltigen Ratten ein gleichartiges Krankheitsbild, wie wir es nach Entmilzung auftreten sahen, hervorzurufen. Die Tiere erkranken nach durchschnittlich 9 Tagen, der Verlauf der Krankheit ist ein akuter. Vielleicht muß der Umstand als etwas abweichend festgestellt werden, daß die E.-Z. etwas langsamer abfielen als bei den splenektomierten Tieren. Es muß aber gesagt werden, daß wir ähnlich E.-Kurven auch an entmilzten Tieren ge-

sehen haben. Es erscheint wichtig, daß die Tiere zur Zeit der Anämie eine relative neutrophile Leukocytose aufwiesen; es ist nur auffallend, daß bei R. 101 eine höhergradige absolute Vermehrung der weißen Zellen, wie wir sie bei entmilzten Tieren zu sehen gewohnt sind, ausblieb. Die pathologische Veränderung des roten Blutbildes und die Erythrophagocytose ist in beiden Fällen nachzuweisen. Der histologische Befund der Organe unterscheidet sich nicht von jenem splenektomierter Tiere. Der histologische Befund der Milzen der beiden Tiere, auf welchen in der ausführlichen histologischen Arbeit zurückzukommen sein wird, entspricht unserer Vorstellung, daß eine hämotoxische Anämie vorliegt.

Wie zu erwarten, gelangen derartige Versuche nicht regelmäßig; 5 weitere, in ihrer Anordnung durchaus gleichartige Versuche an R. 113, 118, 119, 120 und 121 führten zu keinem Ergebnis. Die Ratten blieben dauernd gesund, einige starben unmittelbar nach der Splenektomie offenbar an den Folgen des operativen Eingriffes. Kontrollversuche, in welchen Leberbrei gesunder Tiere in gleicher Weise auf gesunde milzhaltige Tiere übertragen wurde, führten ebenfalls, wie zu erwarten war, zu einem negativen Ergebnis. Desgleichen gelang es auch nicht, die milzhaltigen Tiere R. 102 durch intrahepatale, intravenöse und subcutane Einspritzung von Serum vom R. 83 und R. 103 durch subcutane Injektion von Harn von R. 83, welche, wie schon gezeigt, unter den Zeichen der perniziösen Anämie eingegangen war, krankmachend zu infizieren.

Inwieweit das Vorhandensein der Milz für die angeführten geringen Unterschiede zwischen der perniziösen Anämie entmilzter und nicht entmilzter Ratten verantwortlich gemacht werden kann, das können die drei positiv ausgefallenen Versuche nicht entscheiden. Zur Klärung dieser Frage müßte ein größeres Versuchsmaterial herangezogen werden, und ich glaube, daß derartige Untersuchungen lehrreiche Beiträge zur jetzt noch durchaus ungeklärten und widersprechend beantworteten Frage der Beziehungen zwischen Milz und Knochenmark erbringen könnten. Meine Versuche an splenektomierten Ratten lassen irgendwelche Schlußfolgerungen hinsichtlich der Wechselbeziehungen zwischen Milz und Knochenmark nicht zu, da die Wirkung der Splenektomie an sich auf das Knochenmark durch die infektiöse Anämie mit folgender übermäßiger Mehrbeanspruchung und Reizung des Knochenmarkes verdeckt wird.

Die gelungenen Übertragungsversuche auf gesunde, nicht entmilzte Tiere beweisen also, daß die Entmilzung zum Zustandekommen der perniziösen Anämie der Ratte keineswegs notwendig ist. Und wenn wir in einem früheren Abschnitte bei Besprechung der Pathogenese dieser Erkrankung der Meinung Ausdruck verliehen haben, daß ein durch die Entmilzung verursachter Reizzustand des R.-E.-S. für das Zustandekommen der Krankheit wohl nur von untergeordneter Bedeutung sein dürfte, so beweisen uns die letzten Versuche die Richtig-

keit dieser Anschaung. Sie bestätigen auch die früher vorgebrachte Annahme, daß die antikörperbildende Funktion der Milz für den Ablauf der Krankheit von untergeordneter Bedeutung ist.

Da Ratten also auch ohne Entmilzung erkranken können, so muß mit der Möglichkeit von Spontanerkrankungen gerechnet werden. Dies kann nach meiner Erfahrung wohl kein häufiges Ereignis sein. Obwohl meine Rattenstallungen gewiß mit dem in Rede stehenden Virus stark verseucht waren und obwohl kranke Ratten sehr häufig mit nicht erkrankten im gleichen Käfig gehalten wurden, so habe ich doch niemals eine Ratte unter den Zeichen der schweren Anämie von selbst verenden sehen. Ich beobachtete nur einmal eine anscheinend gesunde Ratte (R. 74), welche eine E.-Z. von 4 000 000 aufwies; während eineinhalbmonatiger Beobachtung stieg die Zahl auf 8 000 000. Es muß schließlich betont werden, daß es durchaus möglich ist, daß gelegentlich eine Narkose allein, eine Laparatomie, eine Netzresektion usw. die Widerstandsfähigkeit eines Tieres soweit herabsetzt, daß die Haftung des endogenen Virus erfolgt. Vielleicht ist der früher geschilderte Fall R. 9 in diesem Sinne zu deuten.

X. Die Frage der Beziehungen der Rattenanämie zur perniziösen Anämie der Pferde und zur Biermerschen Krankheit des Menschen.

Es ist außerordentlich bemerkenswert, daß die Tierpathologie ein Krankheitsbild kennt, welches dem bei der Ratte beschriebenen sehr ähnlich ist: Die perniziöse Anämie der Pferde. Ich möchte auf diese Krankheit nur ganz kurz zu sprechen kommen und verweise hinsichtlich der Details auf die einschlägigen Lehrbücher (*Hutyra* und *Ramek* u. a.).

Die perniziöse Anämie der Pferde ist eine meist akut verlaufende Krankheit, seltener verläuft sie chronisch mit Remissionen. Die akute Form setzt mit hohem Fieber, hoher Pulszahl, meist mit Rhinitis und Conjunctivitis ein und führt unter zunehmender schwerster Anämie, starker Abmagerung, Muskelatrophie, bei erwachsenen Tieren im allgemeinen zwischen 5 und 15 Tagen, bei Fohlen oft schon nach 1—2 Tagen zum Tode. Bei erwachsenen Tieren kann die Krankheit unter Umständen subakut verlaufen und sich 3—4 Wochen hinziehen. Die Zahl der E. kann von 6,2—7 bis auf 2—1 Million abfallen, das rote Blutbild zeigt morphologisch die schweren anämischen Zeichen. Es besteht Polychromasie, nach den Angaben einzelner Untersucher hochgradige Anisocytose [es wurden Megalocyten von einem Durchmesser bis zu $10\text{ }\mu$ (*Wirth*) beobachtet]. Poikilocytose findet sich im allgemeinen nicht. Ebenso fehlen Megaloblasten. Nach *Seyderhelm* ist der Färbeindex größer als 1. Die Literaturangaben über die absoluten Leukocytenzahlen schwanken, nach *Seyderhelm* ist die Zahl meist vermindert, nach *Gilles de Kock* ist sie bald erhöht, bald vermindert; über die zugleich mit dem Erythrocytensturz regelmäßig nachweisbare Mononucleose sind sich die meisten Forscher dagegen einig. Die Zahl der Neutrophilen steigt im Anschluß an eine Fieberattacke, gleichzeitig fallen die Lymphocytenzahlen (*de Kock*). Für unsere Betrachtung erscheint es gewiß sehr bedeutungsvoll, daß *Gilles de Kock* in seiner zusammenfassenden Darstellung berichtet, daß auch Erythrophagocytose und das Vorkommen von degenerativen, vakuolisierten, monocytiären Elementen im strömenden Blut bei dieser Krankheit bekannt sind. Autoptisch wird eine Schwellung der

Lymphknoten und eine große weiche Milz gefunden. Die Leber ist gelblich gefärbt, vergrößert, in ihrer Konsistenz so stark herabgesetzt, daß sie von selbst zerreißen kann. Darmblutungen sind häufig, Magenblutungen selten. Herzmuskel und Nieren zeigen parenchymatische Degeneration, die Nieren in seltenen Fällen kleine Blutungsherde, das Knochenmark ist in eine rote schwammige Masse umgewandelt. In Schnitten der Leber wird histologisch Hyperämie, fettige Degeneration, Hämosiderinablagerung, Erythrophagocytose, Abschuppung und Wucherung der Kupferschen Sternzellen gefunden; gelegentlich findet man eine fettige Degeneration der Leberzellen, an dem Endothelsystem nur geringgradige Veränderungen. Die Erythrophagen des strömenden Blutes werden als abgestoßene Endothelzellen aufgefaßt. Die Inkubation beträgt 5—9 Tage, seltener 18 Tage. Die Krankheit wird durch das Futter übertragen. Blut, Harn und Darmentleerungen sind infektiös. Die Krankheit wird durch ein lebendes Virus hervorgerufen, dessen Filtrierbarkeit zuerst durch Carré und Vallée, später von Hempel u. a. nachgewiesen wurde¹⁾. Der Erreger wird durch Erhitzen auf 58° abgetötet, er ist gegen Eintrocknen und gegen Fäulnis außerordentlich widerstandsfähig. Er kann im Serum, im Harn und in den Darmentleerungen der erkrankten Tiere nachgewiesen werden. Die Krankheit ist experimentell wohl auf Maulesel, dagegen auf Kuh und kleine Versuchstiere nicht übertragbar. Jüngst scheint Jaede und Groth die Übertragung auf das Kaninchen gelungen zu sein. Das Überstehen der Krankheit soll nach Hempel keine Immunität bedingen; es liegen aber auch gegenteilige Angaben vor. Schutzimpfungsversuche haben fehlgeschlagen. Seyderhelm glaubt die im Magen der Pferde nachgewiesenen Bremsenlarven mit der perniziösen Anämie der Pferde in ursächlichen Zusammenhang bringen zu können, Marxer lehnt aber derartige Zusammenhänge ab.

Ich glaube, daß diese kurze Beschreibung der Krankheit genügt, um zu zeigen, daß die perniziöse Anämie der Pferde mit der in Rede stehenden Erkrankung der Ratten weitgehendste Ähnlichkeit hat. Als gemeinsames Merkmal möchte ich hervorheben: Anisocytose, Megalocytose, geringgradige oder fehlende Poikilocytose, Fehlen der Megaloblasten, annähernd gleichlange Inkubationszeit, rapider, meist zum Tode führender Verlauf, schwere Anämie, Erythrophagocytose im strömenden Blut, relative Neutrophilie, im akuten Stadium, nahezu gleichartiger Autopsiebefund, entsprechende histologische Veränderungen der Leber, Übertragbarkeit der Krankheit in der Passage und Unmöglichkeit bzw. nur ausnahmsweise Gelingen der Übertragung der Krankheit auf eine andere Tierspezies. (Die Übertragbarkeit der perniziösen Anämie der Pferde auf Maulesel darf bei der nahen Verwandtschaft von Maulesel und Pferd nicht auffallen.) Beim Vergleich der Pferde- und Rattenkrankheit muß der Gedanke wach werden, daß es sich in beiden Fällen um verwandte ätiologische Krankheiten handelt. Dem steht nun wohl entgegen, daß Seyderhelm ausdrücklich hervorhebt, daß die perniziöse Anämie der Pferde auf weiße Ratten nicht übertragbar ist; da wir aber gesehen haben, daß auch die Anämie der Ratten nicht ohne

¹⁾ Es sei hier daran erinnert, daß *Trineas* bei einer speziellen Anämieform des Hundes ein filtrierbares, in der Tierpassage fortzüchtbares Virus als Erreger nachweisen konnte.

weiteres auf gesunde milzhaltige Ratten übertragen werden kann, so scheint mir die erwähnte Behauptung *Seyderhelms* erst dann volle Berechtigung zu gewinnen, wenn es auch nicht gelingt, entmilzte Ratten mit dem Virus der perniziösen Anämie der Pferde zu infizieren¹⁾.

Neben der akuten Form ist eine chronische Form der perniziösen Anämie der Pferde bekannt. Es handelt sich um eine remittierende Form der Erkrankung mit zeitweise auftretenden Fieberanfällen bei gleichzeitigem Absinken der Erythrocytenzahlen. Ich glaube nun auch bei Ratten einen ähnlichen Verlauf der Anämie gesehen zu haben. Die einschlägigen Fälle sind aber nicht genau beobachtet, so daß ich mich über diesen Punkt mit Sicherheit nicht äußern kann. Es müssen weitere Erfahrungen abgewartet werden.

Sollte sich das Vorkommen derartiger Schübe im Verlaufe der Rattenanämie bestätigen, so erinnern diese an die Remissionen bei der Biermerschen Krankheit des Menschen. Eine sichere Parallele zwischen Biermerscher Krankheit und perniziöser Anämie der Ratten kann aber auf Grund dieser Beobachtungen nicht gezogen werden. Und wenn wir uns fragen, ob irgendwelche andere Analogien zwischen diesen beiden Erkrankungen bestehen, so muß diese Frage schon bei einer flüchtigen Betrachtung beider Krankheitsbilder verneint werden. Der Ablauf der Krankheit ist ein durchaus verschiedener. Während sie sich beim Menschen im allgemeinen auf Jahre hinzieht, haben wir bei der Ratte eine innerhalb weniger Tage verlaufende Krankheit vor uns, die entweder binnen weniger Tage zum Tode führt oder innerhalb kurzer Zeit in Heilung ausgeht. Die Ähnlichkeit zwischen den beiden Krankheiten geht ja nicht einmal so weit, daß sich der Blutbefund deckt. Das erythrocytäre Blutbild ist zwar in beiden Fällen ein sehr ähnliches, das leukocytäre ist aber durchaus abweichend: Hier Leukopenie mit relativer Leukocytose, dort absolute und relative Neutrophilie und Monocytose. Auch die Hämoglobinämie und die Hämaturie bzw. Hämoglobinurie und das Verhalten der Blutplättchen scheinen die Krankheiten grundsätzlich zu unterscheiden, und schließlich finden sich bei der histologischen Untersuchung der Organe der Ratten Veränderungen, die bei der Krankheit des Menschen nicht bekannt sind: die schweren Leberveränderungen. Es muß aber wohl zugegeben werden, daß sich am Endothelsystem und an allen Zellen, welche an der Aufarbeitung der zugrundegehenden roten Blutkörperchen beteiligt sind, beim Menschen und bei der Ratte die gleichen Veränderungen finden: Erythrophagacytose, Ablagerung von Blutpigment. Bilder der Kupferschen Sternzellen des Menschen, wie sie

¹⁾ *Nachtrag bei der Korrektur:* Über gemeinsam mit Herrn Dozenten *Gerlach*, Direktor der Staatl. Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling bei Wien, durchgeführte, vorläufig ergebnislos verlaufene Übertragungsversuche auf Pferde soll später berichtet werden.

z. B. *Eppinger* abbildet, entsprechen durchaus unseren Befunden an den Endothelzellen der Rattenleber. Doch es darf nicht vergessen werden, daß jede Anämie, die mit einem vermehrten Untergang von Erythrocyten einhergeht, histologisch eben die Zeichen des Erythrocytenuntergangs aufweisen muß und daß dieser Befund allein in keiner Weise berechtigt, an eine grundsätzliche Gleichartigkeit derartiger Prozesse zu denken. Das gleiche gilt für den beim Menschen und bei der Ratte beobachteten Ikterus.

Es könnte nun freilich gesagt werden, daß sich zwischen den beiden Krankheiten insofern eine Beziehung herstellen lasse, als sie beide Anämien vorwiegend hämatoxischer Natur sind, und daß sich auch insofern Ähnlichkeiten finden, als bei beiden Krankheiten fettige Degeneration der Leber beobachtet wird. Es könnte auch behauptet werden, daß sich die Gegensätze zwischen den beiden Krankheiten zum Teil durch einen, vielleicht durch die Spezies bedingten Gradunterschied in der Geschwindigkeit des Ablaufes der Erkrankungen ihre Erklärung finden könnten. Wenn die gleiche Krankheit beim Menschen chronisch, beim Tier aus vorläufig nicht näher definierbarer Ursache akut verläuft, so könnte hierin eine Erklärung dafür gesucht werden, daß sich nicht nur im zeitlichen Ablauf, sondern auch in der Symptomatologie scheinbar grundsätzliche Unterschiede finden lassen. Die Leukocytose bzw. Leukopenie und die schweren Lebernekrosen könnten etwa so erklärt werden. Es könnte schließlich auch noch angenommen werden, und die Möglichkeit liegt auch tatsächlich vor, daß auch bei der menschlichen perniziösen Anämie gelegentlich eine intravasale Hämolyse besteht, jedoch so leichten Grades, daß sie sich bei Anwendung unserer gewöhnlichen Beobachtungsmethoden dem Nachweise entzieht. Die bei der Ratte beobachtete Hämoglobinämie wäre dann dieser geringfügigen Hämolyse gleichzusetzen. Derartige Gedankengänge erscheinen mir aber allzu hypothetischer Natur, als daß sie genügten, die Unterschiede zwischen diesen beiden Krankheiten zu verwischen und daß sie gestatten würden, innigere Beziehungen zwischen diesen beiden Krankheiten anzunehmen.

Es mag nun folgende Überlegung bei vergleichender Betrachtung von Biermerscher Krankheit und perniziöser Anämie der Ratten nicht ohne Interesse sein. Das Symptomenbild der Biermerschen Krankheit kann durch den Botriocephalus latus hervorgerufen werden. Zum Zustandekommen der Krankheit genügt aber die Infektion mit diesem Parasiten allein nicht; denn es erkranken nicht alle Individuen, welche einen Botriocephalus tragen. Ein konstitutionelles Moment scheint neben der Infektion eine wesentliche Rolle zu spielen. Auch bei der Ratte nun genügt die Infektion allein nicht, um die perniziöse Anämie auszulösen. Das Tier muß für die Infektion durch die Entmilzung

erst besonders empfänglich gemacht werden. Die Zustandsänderung des Organismus der Ratte nach der Splenektomie könnte nun für das Auftreten der Krankheit in gleicher Weise maßgebend sein, wie jenes konstitutionelle Moment, welches für das Auftreten der Birmerschen Krankheit des Menschen von zu großer Bedeutung sein dürfte, und diese Prädisposition des Organismus, die in beiden Fällen Voraussetzung einer krankmachenden Infektion ist, könnte vielleicht als ein ähnlicher und gemeinsamer Zug der beiden Krankheiten betrachtet werden. Es muß aber betont werden, daß wohl auch diese Überlegung nicht die Grundlage für Analogieschlüsse irgendwelcher Art, insbesondere hinsichtlich der Ätiologie der Birmerschen Krankheit, abgeben kann. Wenn wir auch heute der Anschauung sind, daß sich bei der Birmerschen Krankheit Knochenmark und Blut nicht primär aus sich selbst heraus im Sinne der perniziösen Anämie umwandeln, sondern daß ein bisher unbekanntes Agens primär in Wirksamkeit tritt und die Veränderungen an Blut und Knochenmark als sekundäre anzusprechen sind und auch mit der Möglichkeit gerechnet werden muß — *Seyderhelm* hat diesen Gedanken ventiliert — daß dieses Agens infektiöser Natur sei, so bietet die Erkenntnis der beschriebenen Rattenanämie doch keine neue Handhabe für eine derartige Annahme. Vielleicht regen derartige Überlegungen und die Tatsache, daß bei einer Tieranämie, bei der a priori der Gedanke einer Infektion nicht wach wird, die infektiöse Ätiologie doch nachgewiesen werden konnte, aber dazu an, in Zukunft der Möglichkeit einer infektiösen Komponente in der Ätiologie der Birmerschen Krankheit größeres Augenmerk zuzuwenden.

XI. Lebendes Virus oder unbelebtes Agens?

Wir sind also im Laufe unserer Ausführungen zur Überzeugung gelangt, daß der perniziösen Anämie der Ratte nach Splenektomie ein lebendes Virus zugrundeliegt. Wir begründeten diese Annahme einerseits mit Beobachtungen epidemiologischer und symptomatologischer Natur am kranken Tier (Inkubation, Krankheitsverlauf, histologischer Untersuchung usw.), andererseits mit der Tatsache, daß uns die Tierpassage gelungen ist, ein Kriterium, welches bis vor kurzem als einwandfreier Beweis für die belebte Natur des infektiösen Agens angesprochen wurde. Wenn wir aber alle diese Kriterien auf ihre Beweiskraft hin genauer untersuchen, so müssen wir vorerst sagen, daß der ersten Gruppe von Beweisgründen eine Stichhaltigkeit gewiß nicht zu kommt; wäre uns die Tierpassage als Schlußstein unserer obigen Beweisführung nicht gelungen, so hätten wir die genannten Beobachtungen, wie es ja zum Teil *Domagk* und *Lepehne* getan haben, mit besonderen Eigentümlichkeiten des R. E. S. der Ratte, mit Funktionsausfall der Milz und dadurch bedingte besondere Beeinflussung der Kupferzellen

und des retikuloendothelialen Apparates überhaupt, vielleicht auch durch Zirkulationserschwerung, embolischen Verschluß kleiner Gefäße usw. zu erklären versucht. Die erstgenannten Gründe haben also erst durch die Tierpassage eine erhöhte Beweiskraft erhalten. Wie aber nun *Doerr* in letzter Zeit nachdrücklichst betont hat, kommt auch der gelungenen Tierpassage keineswegs eine zwingende Beweiskraft für die belebte Natur des krankmachenden Agens zu.

Die Vorstellung, daß der serienweisen Passage ein lebendes Virus zugrundeliegt, hängt mit der Anschauung zusammen, daß ein nicht belebtes krankmachendes Material, z. B. Toxine, durch die Übertragung von Tier zu Tier immer mehr verdünnt wird, so daß die Serie über kurz oder lang abreißt muß. Die fortlaufende Passage setzt voraus, daß sich das krankmachende Agens im Organismus vermehre, konzentriere. Die Fähigkeit der Vermehrung kommt aber nur dem belebten Organismus zu.

Ist der Krankheitserreger von einer Größenordnung, der uns gestattet, an ihm Wachstum, Teilung und andere komplizierte Lebensäußerungen zu beobachten, so erwachsen uns hinsichtlich seiner belebten Natur keine Bedenken. Die Möglichkeit der serienweisen Übertragung wird als Kriterium hier überhaupt nicht herangezogen werden müssen. Anders steht es aber bei der Passage eines nicht sichtbaren Agens. Es ist das *Twort d'Herellesche* Phänomen, welches die Schwierigkeit dieses Problems neu aufrollt und erst recht beleuchtet hat. Ich will auf dieses Thema, welches von *Doerr* vor kurzem zusammenfassend behandelt wurde, nicht näher eingehen, nur kurz darauf hinweisen, daß *d'Herelles* selbst nach wie vor daran festhält, daß dem von ihm beschriebenen Phänomen ein lebendes, nicht sichtbares filtrierbares Virus zugrunde liegt, während eine Reihe anderer Forscher an ein nicht belebtes Agens denken, welches dadurch immer wieder in der Passage erscheint und seine Wirkung ausübt, daß bei der Reaktion zwischen der Bakterienkultur und diesem Agens das gleiche Agens als Reaktionsprodukt wieder entsteht.

Beim *d'Herelleschen* Phänomen würde der fortgezüchtete lebende Nährboden des Bakteriophagen, die Bakterienkultur immer wieder das Material für das Entstehen des fraglichen Agens abgeben. Die Frage, ob es also unbelebte, aus sich selbst heraus in der Passage fortzüchtbare, vermehrungsfähige, an das Vorhandensein einer lebenden Substanz nicht gebundene Stoffe gibt, kann daher mit diesen Versuchen mit Sicherheit nicht entschieden werden. Die Beurteilung der Verhältnisse wird wesentlich einfacher, wenn wir es nicht mit einem lebenden, sondern mit einem toten Konzentrationsraum zu tun haben. Derartige Verhältnisse finden wir in den Versuchen von *Delezennes* und *Ledebit*, welche Enterokinase bei 0° auf Pankreasafft einwirken ließen, wobei sich

aus Trypsinogen Trypsin bildet. Das Reaktionsgemisch kann nun eine neue Menge Pankreas wieder aktivieren, und die Forscher konnten die Erscheinung in 30 aufeinanderfolgenden Passagen aufzeigen. Die serienweise Passage ist also kein Beweis für die lebende Natur eines Agens.

Kehren wir unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse zur Besprechung der vorliegenden Rattenversuche zurück und sehen nach, was sich zugunsten, was zuungunsten der lebenden Natur des die Rattenanämie verursachenden Stoffes anführen läßt, so muß folgendes gesagt werden:

Ausgangspunkt der Versuche war die Splenektomie an der normalen Ratte, also ein rein mechanischer Eingriff an einem gesunden Tier. Die Möglichkeit, daß gleichzeitig mit dem mechanischen Eingriff eine exogene Infektion des Tieres hätte stattfinden können, erscheint außerordentlich unwahrscheinlich. Es ist nun möglich, daß die Entfernung der Milz allein das R.-E.-S. in einen besonderen Reizzustand versetzt, welcher sich gelegentlich in Krankheitserscheinungen äußert. Daß die Herausnahme eines Organes allein im Organismus schwere Störungen nach sich ziehen kann, ist uns aus der Lehre der Drüsen mit innerer Sekretion durchaus geläufig. Es wäre nun weiter denkbar, daß sich in diesem gereizten retikuloendothelialen System oder aber unter dem Einfluß der entstandenen Krankheit an anderer Stelle des Organismus ein Agens bildet, welches auf entmilzte Tiere, deren Endothelsystem sich ebenfalls in Reizzustand befindet, übertragen, bei diesen die gleichen Krankheitserscheinungen hervorruft, daß also auf diese Weise die Tierpassage gelingt. Haben wir uns aber einmal die Vorstellung zueigen gemacht, daß auf diese Weise ein Reizkörper entstehen kann, der auch in der Passage das nach der Splenektomie aus dem Gleichgewicht gebrachte R.-E.-S. zur krankheitserzeugenden Reaktion bringt, so ist auch die Vorstellung berechtigt, daß bei entsprechender Applikationsart, entsprechender pathogener Kraft, entsprechender Menge dieses Agens auch bei einem gesunden, nicht entmilzten, vielleicht milder widerstandsfähigen Tier die gleiche Krankheit hervorgerufen werden kann: Passage auf das milzhaltige Tier.

Ist die Voraussetzung richtig, daß die Versuchsreihe mit einem gesunden, ein pathogenes Virus nicht beherbergenden Tier ihren Anfang nimmt, so erscheint mir durch diese Versuche sogar ein neuerlicher Beweis dafür erbracht zu sein, daß die Tierpassage keineswegs an ein lebendes Virus gebunden ist, sofern wir von der einen, wohl unbegründeten Möglichkeit absehen, daß sich als Folge der Milzentfernung irgend ein Teil des lebenden Gewebes der Ratte, etwa ähnlich den Kupferzellen, losreißt und als selbständiges lebendes Individuum in Erscheinung tritt, welches nun in der Tierpassage als pathogener Faktor weiter gezüchtet werden kann.

Wenn sich somit alle beobachteten Erscheinungen und auch die Tierpassage mit der Vorstellung vereinen lassen, daß sie als Auswirkungen einer besonderen Umstellung des Organismus, insbesondere des R.-E.-S., nach der Splenektomie aufzufassen sind, daß wir es also in der Passage mit einem nicht belebten infektiösen Agens zu tun haben, so muß doch betont werden, daß eine Reihe von Momenten dafür sprechen, daß die perniziöse Anämie der Ratte auf ein lebendes Virus zurückzuführen ist und daß das Ausgangstier der Passagereihe das Virus beherbergt, daß also das Tier Keimträger ist.

Es wäre doch zu auffallend, daß die Entmilzung bei einem Tier zu schwersten Krankheitserscheinungen führt, bei einem anderen Tier trotz der Umstellung des R.-E.-S., welche wir wohl bei allen Tieren annehmen müssen, vielleicht nur geringgradige, histologisch nachweisbare Veränderungen am Endothelsystem oder bloß eine leicht vermehrte Eisenspeicherung in den Kupferzellen usw. hervorruft. Dieser Gegensatz, ebenso wie das Fehlen von fließenden Übergangsbildern zwingt wohl zur Annahme von Keimträgern, zur Annahme eines lebenden Virus, zumal dafür alle früher aufgezählten Momente, wie Inkubation, Epidemiologie usw., dann alle Analogien doch auch in Betracht kommen, welche sich mit den bekannten durch lebende Virusarten bedingten Infektionskrankheiten herstellen lassen.

Das eine steht meines Erachtens fest: Ob belebt oder unbelebt — ein in der Tierpassage fortzüchtbares Agens, welches auf Grund seiner pathogenen Eigenschaften den bekannten „lebenden Virusarten“ gleichzusetzen ist, ist die Ursache der Krankheit. Inwieweit das R.-E.-S. primär eine ursächliche Rolle für das Auftreten dieses Agens, inwieweit seine Reizung Folge der pathogenen Wirkung des Agens ist, erscheint von mehr untergeordneter Bedeutung.

XII. Die Anämie entmilzter Ratten als Fehlerquelle in den Versuchen anderer Autoren.

Der Wert der vorliegenden Untersuchungen über die perniziöse Anämie splenektomierter Ratten scheint an sich für die Humanmedizin nur gering veranschlagt werden zu dürfen. Aber abgesehen von der Erkenntnis, die wir in allgemein biologischer Hinsicht z. B. in der Frage der Beziehung von Milz und Infektion gewonnen haben, die ja der Humanmedizin auch bis zu einem gewissen Grade zugute kommt, so scheinen meine Untersuchungen in dieser Hinsicht doch auch ein positives Ergebnis zu enthalten, weil aus ihnen hervorgeht, daß die Entmilzung einer Ratte mit dem gleichen Eingriff bei anderen Tieren und beim Menschen nicht vergleichbar ist, und daß alle Schlußfolgerungen, welche andere Untersucher auf Grund von Untersuchungen von entmilzten Ratten ohne Berücksichtigung der perniziösen Anämie

dieser Tiere gezogen und zum Teil auch verallgemeinert haben, einer gründlichen Nachprüfung bedürfen.

Streuli hat im Asherschen Institut in Bern das Verhalten sowohl splenektomierter, als thyreoidektomierter Ratten bei Sauerstoffmangel studiert und hat unter anderem gefunden, daß milzlose Tiere eine viel größere Empfindlichkeit auf Sauerstoffmangel zeigen als normale Tiere. Wie ich nun schon oben hervorgehoben habe, teilt *Streuli* mit, daß seine Ratten die Entmilzung im allgemeinen nicht länger als 10 Tage überlebten. Er sagt nichts darüber aus, unter welchen Krankheitserscheinungen die Tiere eingingen, und ich bin daher nicht in der Lage und nicht berechtigt, seine Beobachtungen an entmilzten Tieren mit den meinen ohne weiteres zu vergleichen. Immerhin muß es auffallen, daß die Ratten *Streulis* die Entmilzung durchschnittlich um die Inkubationsdauer der hier beschriebenen perniziösen Anämie überlebten, und es ist daher wohl berechtigt, die Möglichkeit, ja sogar Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß auch in den Versuchen *Streulis* das Virus der perniziösen Anämie der Ratte mit im Spiele war. Wenn dieser Forscher tatsächlich an entmilzten und an perniziöser Anämie erkrankten Tieren experimentiert hat, so kann es nicht wundernehmen, daß er an seinen Tieren eine hohe Sauerstoffempfindlichkeit festgestellt hat. Ich glaube, man könnte fast behaupten: Die hohe Sauerstoffempfindlichkeit der Ratten in den Versuchen von *Streuli* scheint zu beweisen, daß seine Tiere mit dem Virus der perniziösen Anämie infiziert waren und nach der Splenektomie erkrankten. Demgegenüber muß aber doch hervorgehoben werden, daß *Streuli* unter 8 Versuchen 4 mal an Tieren arbeitete, die nur 2 Tage vorher splenektomiert worden und bei Anstellung des Versuches anscheinend gesund waren (die übrigen Tiere waren 5, 6, 6, 7 Tage vorher operiert), und daß es daher durchaus möglich ist, daß einige von seinen Tieren in gesundem Zustand in den Versuch genommen wurden und tatsächlich nach der Splenektomie eine erhöhte Sauerstoffempfindlichkeit zeigten. Wir haben aber in unseren Versuchen einerseits gesehen, daß manche Tiere bereits am zweiten Tage schwerst erkranken und daß die Tiere andererseits durchaus gesund erscheinen können und ein normales Verhalten darbieten, obwohl der Blutbefund bereits eine schwere Anämie aufdeckt, so daß gesagt werden muß, daß auch den Versuchen *Streulis* an scheinbar gesunden Ratten, die wenige Tage vorher entmilzt wurden, zumindest eine Beweiskraft nicht zukommt. Erst eine Wiederholung dieser Versuche mit Berücksichtigung der erwähnten Fehlerquelle könnte verlässliche Resultate zeitigen.

Die gleichen Einwände gelten für die Untersuchungen von *Danoff*, welcher den Einfluß der Milzherausnahme auf den respiratorischen Stoffwechsel von Ratten untersuchte. Er fand, daß die Entfernung der Milz

zu einer erheblichen Erhöhung des Grundumsatzes Veranlassung gibt; von Tag zu Tag wächst nach den seinen Arbeiten beigegebenen Tafeln die Menge des ausgeschiedenen CO_2 und der Verbrauch des Sauerstoffes. *Danoff* hebt nun nicht nur, ebenso wie *Streuli*, hervor, daß seine Ratten die Splenektomie bloß 9—10 Tage überlebten, sondern er beschreibt sogar, wie ich eingangs schon hervorgehoben habe, in groben Zügen das von mir studierte Krankheitsbild der perniziösen Anämie der Ratte, zwar ohne das Wesentliche, die Anämie, erkannt zu haben, so daß wohl fast mit Sicherheit angenommen werden kann, daß *Danoffs* Tiere mit dem in Rede stehenden Virus infiziert waren und nach der Entmilzung erkrankten. Die Stoffwechselsteigerung der kranken Tiere ist eine notwendige und selbstverständliche Folge der Infektion und der Anämie mit der übermäßigen Tachypnoe. Als Beweis für die Richtigkeit meiner Annahme darf übrigens angeführt werden, daß *Asher* und *Takahashi* bei Wiederholung der gleichen Versuche eine Erhöhung des respiratorischen Grundumsatzes vermißten und in 5 Versuchen sogar 4 mal eine Verminderung des Stoffwechsels beobachteten; sie heben ausdrücklichst hervor, daß ihre Ratten die Entmilzung viel besser überstanden als die von *Danoff*. Auf Grund der Erkenntnis der perniziösen Anämie splenektomierter Ratten glaube ich daher aus *Danoffs* und *Asher* und *Takahashis* Untersuchungen den Schluß ziehen zu dürfen, daß die Splenektomie den Grundumsatz der Ratte nicht erhöht. Da *Doubler* und *Koda* auch beim Hund nachwiesen, daß der Grundumsatz vor und nach der Splenektomie gleich hoch ist, darf wohl allgemein gesagt werden, daß die Entmilzung den Grundumsatz nicht beeinträchtigt. *Danoffs* Behauptung, „Ratten sind Tiere, die recht geeignet sind, um wichtige Fragen des respiratorischen Stoffwechsels zu prüfen“, kann ich wohl in keiner Weise beipflichten, sofern splenektomierte Ratten gemeint sind.

Ich möchte hier nebenbei anführen, daß *Danoff* die Beobachtung machte, daß entmilzte Ratten im Gegensatz zu Normaltieren nach Herausnahme aus der Respirationskammer meist mit Schweiß bedeckt waren, daß die Haare des Felles am Leibe klebten, daß die Wandungen des Käfigs mit Wassertropfen benetzt waren und daß sich am Boden der Kammer viel Urin fand. Milzlose Ratten sondern nach Angabe des Verfassers mehr Harn ab als Normaltiere. Ich habe auf diese Verhältnisse erst in meinen letzten Versuchen geachtet, und ich konnte tatsächlich beobachten, daß die Käfige entmilzter Tiere abnorm stark durchnäßt waren. Das in dieser Hinsicht beobachtete Material ist aber noch zu wenig umfangreich, um in dieser Hinsicht Sicheres aussagen zu können. Ich glaube aber den Eindruck gewonnen zu haben, daß es die perniziös-anämischen Tiere sind, welche diese Erscheinung zeigen. In diesem Zusammenhange sei übrigens auf die Angaben von *Paton* und

Goodall verwiesen, welche bei entmilzten Hunden eine beschleunigte Wasserausscheidung verzeichnen.

Schließlich ist *Lepehne* in seinen „Versuchen an Ratten, den Eisenstoffwechsel durch Milzextirpation zu beeinflussen“, zu Ergebnissen gekommen, welche bei Berücksichtigung der der Splenektomie häufig folgenden schweren Anämie in einem ganz anderen Lichte erscheinen müssen. *Lepehne* fand, daß in den Kupferschen Sternzellen neben Erythrocytentrümmern und Hämoglobintropfen einige Tage nach der Entmilzung eine große Menge Eisen histologisch nachgewiesen werden könne. Er erkannte als Ursache der Eisenablagerung eine Hämoglobinämie; wie sich *Lepehne* das Zustandekommen dieser Hämoglobinämie vorstellt, habe ich früher schon erwähnt. Der Grad der Eisenablagerung in den Kupferschen Sternzellen war nun merkwürdigerweise nicht in allen Versuchen von der Zeit abhängig, die seit der Splenektomie verstrichen war; es ergaben sich da auffallende Verschiedenheiten, die *Lepehne* nicht zu erklären vermochte. Meine diesbezüglichen Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen. Es scheint mir jedoch, daß meine an den Ratten erhobenen Befunde derartige Unstimmigkeiten nicht nur erklären können, sondern sogar voraussagen lassen. Es scheint mir überaus wahrscheinlich, daß die Eisenablagerung in der Leber nicht eine Folge der Entmilzung, sondern eine Folge der Erythrocytenzerstörung ist. Da diese bald wenige Tage, bald erst nach einem Monat nach der Splenektomie einsetzen kann, so dürfte das gleiche auch für die Eisenablagerung in der Leber Geltung haben. Meine in dieser Richtung noch nicht umfangreichen Untersuchungen scheinen in diesem Sinne zu sprechen. Ich werde auf dieses Thema an anderer Stelle zurückkommen¹⁾.

XIII. Schluß.

Das Problem der nach Splenektomie auftretenden Anämie der Ratte scheint mir durch meine Untersuchungen grundsätzlich gelöst. Ich bin mir aber bewußt, daß in der vorliegenden Arbeit eine Reihe von Einzelheiten nur angeschnitten wurde und einer endgültigen Klärung harrt. Trotzdem übergebe ich meine bisherigen Ergebnisse der Öffentlichkeit, weil ich glaube, daß das Problem der perniziösen Anämie der Ratte in vieler Hinsicht Ausblicke eröffnet und mir die Bearbeitung des Themas, welches sowohl allgemein biologische, als auch spezielle, insbesondere die Ursache der Anämien betreffende Fragestellungen berührt, aussichtsreich erscheint.

¹⁾ *Lauda* (unter Mitarbeit von *Haam*): „Zur Frage des Einflusses der Milz auf den Eisenstoffwechsel“, *Ortner-Festschrift Wr. Arch. f. inn. Med.* 1925. S. 293.

Literaturverzeichnis.

- Asher*, Dtsch. med. Wochenschr. 1911, S. 1252. — *Asher* und *Grossenbacher*, Biochem. Zeitschr. **17**, 78. 1909. — *Asher* und *Sollberger*, Biochem. Zeitschr. **55**, 13. 1913. — *Asher* und *Takahashi*, Biochem. Zeitschr. **145**, 130. 1924. — *Aschoff* und *Kiyono*, Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges. 1913, S. 107. — *Audibert* und *Valette*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **1**, 536. 1907. — *Austin* und *Pearce*, Journ. of exp. med. **20**, 122. 1914. — *Bardach*, Ann. de l'inst. Pasteur **3**, 577. 1898; **5**, 40. 1899. — *Bieling*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Orig. **38**, 193. 1923/24. — *Bizzozero* und *Salvioli*, zit. nach *Freytag*. — *Blumreich* und *Jakoby*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **29**, 419. 1898. — *Brugsch* und *Pappenheim*, Handbuch der speziellen Therapie und Pathologie innerer Krankheiten, Kraus-Brugsch, Bd. 8. 1920. — *Carrée* und *Vallée*, Cpt. rend. des séances de l'acad. des sciences **139**, 331. 1904. — *Danoff*, Biochem. Zeitschr. **93**, 44. 1919. — *Delezennes* und *Ledebe*, zit. nach *Doerr*. — *Doerr*, Klin. Wochenschr. **2**, 908. 1923. — *Domagk*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **249**, 83. 1924. — *Doubler*, Biochem. Zeitschr. **122**, 161. 1921. — *Dubois*, Biochem. Zeitschr. **82**, 141. 1917. — *Ehrlich*, Notnagels Handbuch **8**, 107. — *Eppinger*, Die hepatoliennalen Erkrankungen, Berlin 1920. — *Freytag*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **120**, 517. 1907. — *Gabbi*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **19**, 647. 1896 u. **14**, 351. 1893. — *Gilles de Kock*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. 2, Ref. 1925, S. 132; Inaug.-Diss., Bern 1923. — *Gonder* und *Rodenwald*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. **54**, 236. 1910. — *Goodall*, *Gulland* und *Paton*, Journ. of physiol. **30**, 1. 1904. — *Hempel*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., I., Ref. **44**, 197. — *Hirschfeld* und *Sumi*, Klin. Wochenschr. 1924, H. 30, S. 1361. — *Hutyra* und *Ramek*, Handbuch der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere 1910. — *Jaede* und *Groß*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., I., Ref. 1925, S. 174. — *Klieneberger* und *Carl*, Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, Leipzig 1912. — *Koda*, Biochem. Zeitschr. **122**, 154. 1921. — *Kreuter*, Arch. f. klin. Chir. **106**, 191. 1915. — *Krumbhaar*, *Musser* und *Pearce*, Journ. of exp. med. **18**, 665. 1913. — *Kurloff*, zit. nach *Ehrlich-Lazarus*, Notnagels Handbuch **8**, 56. 1898. — *Kurlow*, Arch. f. Hyg. **9**, 450. 1889. — *Laudenbach*, zit. nach *Freytag*. — *Lepehne*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **64**, 55. 1918. — *Maggiorani*, zit. nach *Freytag*. — *Malassez* und *Picard*, zit. nach *Freytag*. — *Martinotti* und *Barbacci*, zit. nach *Blumreich* und *Jakoby*. — *Marzer*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Orig. 1920, S. 1. — *Mazzei*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., I., Ref. **41**, 507. 1908. — *Melnikoff* und *Raswedenkow*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **21**, 466. 1896. — *Musser* und *Krumbhaar*, Journ. of exp. med. **18**, 487. 1913. — *Noguchi*, Berlin, klin. Wochenschr. 1912, S. 1839. — *Paschkis*, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **43**, H. 1/2, S. 175. 1924. — *Paton* und *Goodall*, Journ. of physiol. **29**, 411. 1903. — *Paton*, *Gulland* und *Fowler*, Journ. of physiol. **33**, 83. — *Pearce* und *Austin*, Journ. of exp. med. **16**, 780. 1912. — *Pearce* und *Peet*, Journ. of exp. med. **18**, 494. 1913. — *Plinius*, zit. nach *Hirschfeld*, Dtsch. med. Wochenschr. 1915, H. 37/38, S. 1099. — *Ponticaccia*, Giorn. di clin. med. **20**, 1. 1925. — *Port*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **73**, 251. 1913. — *Pouchet*, zit. nach *Freytag*. — *Regling* und *Klunka*, zit. bei *Dubois*, Milärztl. Z., 1911, H. 3. — *Russ* und *Kirschner*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, Orig. **32**, 113. 1921. — *Schilling*, Folia haematol. **6**, 429. 1908. — *Schmidt*, 17. Tagung d. Dtsch. pathol. Ges. 1914; Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges. 1912, S. 91 (XV). — *Silvestri*, zit. bei *Ponticaccia*. — *Sirena*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., I., Ref. **42**, 516. 1909. — *Souda*.

kowitsch, Ann. de l'inst. Pasteur 1891, S. 545. — *Seyderhelm*, R., Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **58**, 285. 1914. — *Seyderhelm*, R., Dtsch. Arch. f. klin. Med. **126**, 95. 1918; 17. Tagung d. dtsch. pathol. Ges. 1914. — *Seyderhelm*, K. R., und R. *Seyderhelm*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **76**, 149. 1914. — *Sternberg*, Münch. med. Wochenschr. 1903, S. 92. — *Streuli*, Biochem. Zeitschr. **87**, H. 5/6. 1918. — *Tauber*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **46**, 29. 1894. — *Tictin*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. **15**, 840. 1894. — *Tizzoni* und *Filetti*, zit. nach *Freytag*. — *Trincas*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., I., Ref. **40**, 813. 1907. — *Vogel*, Biochem. Zeitschr. **18**, 386. 1912. — *Vulpius*, Beitr. z. klin. Chir. 1894, H. 11, S. 3. — *Winogradow*, zit. nach *Freytag*. — *Zesas Glarus*, Arch. f. klin. Chir. **28**, 815.