

(Aus dem Laboratorium der pathologischen Physiologie des Staatlichen Instituts
für tierärztliche Medizin zu Moskau [Direktor: Prof. G. P. Ssacharoff].)

Spielen die Leukocytolsine eine wesentliche Rolle beim Mechanismus des anaphylaktischen Shocks?

Von

Prof. Dr. G. P. Ssacharoff und Dr. O. W. Krassowskaja.

Mit 9 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 24. Oktober 1931.)

Daß die Milz am Vorgang der Sensibilisierung des Organismus für den anaphylaktischen Shock nicht unwesentlich beteiligt ist, ist uns aus den Versuchen mit der Blockierung des reticuloendothelialen Systems, sowie mit der Entmilzung bekannt: sowohl auf diesem als auch auf jenem Wege vermag man unter gewissen Verhältnissen dem Shock vorzubeugen. Nach H. Mautner¹ jedoch hat die Entmilzung diese Wirkung nur dann, wenn sie *vor* oder *im Beginn* der Sensibilisierung vorgenommen wird *, aber nicht bei bereits sensibilisierten Tieren, woraus gefolgert wird, daß die Entfernung der Milz den Shock mittelbar verhütet, nämlich vermittels einer Veränderung des Stoffwechsels, die die Sensibilisierung verhindert, während die Blockierung die Adsorption des Antigens durch das Reticuloendothel verhindert **.

Wir unternahmen den Versuch, der Frage nach der Bedeutung der Milz bei der Anaphylaxie unter einem anderen Gesichtswinkel näherzutreten, und zwar ausgehend von der Tatsache, daß dieses Organ einen besonderen Stoff ausscheidet, der weiße Blutkörperchen auflöst, das sog. Leukocytolsin, wovon man sich unter anderem bei Versuchen am isolierten Organ *** überzeugen kann, sowie auf Grund der Tatsache, daß die leukocytolytische Funktion der Milz unter dem Einfluß der Sensibilisierung ausgeschaltet wird ****, wir stellten die Frage, ob man

* Übrigens ist die Wirkung unbeständig, wie Mautner annimmt, infolge der ungleichen Kompensierung seitens der vikariierenden Organe: der Lymphknoten und des Knochenmarks.

** Moldovan hält es übrigens für möglich, von der angeblichen Ausscheidung eines „desensibilisierenden“ Stoffes durch das Reticuloendothel in der Leber unter diesen Verhältnissen zu sprechen.

*** Siehe Ssacharoff, G. P. u. S. S. Subow².

**** Siehe Ssacharoff, G. P. u. O. W. Krassowskaja³.

nicht dem letzteren Moment beim Mechanismus des anaphylaktischen Shocks eine gewisse Rolle zuschreiben müsse, wenn man auf dem Standpunkt der Gifttheorie der Anaphylaxie steht und die Schutzfunktion der Leukocytolyse gegenüber allerlei Vergiftungen in Betracht zieht.

An die Lösung dieser Frage heranzutreten, schien uns auf folgendem Wege möglich zu sein: wird irgendeine Beeinflussung des Shocks erfolgen, wenn man sich bemüht, durch besondere Maßnahmen die leukocytolytische Funktion der Milz vom Zustand des Darniederliegens im Ergebnis der Sensibilisierung zu befreien, und vermag man irgendeine Wirkung zu erzielen, wenn man einem anaphylaktisierten Tier ein fertiges Leukocytolysin — Milzextrakt — einige Zeit vor der zweiten, wirkungsvollen Einspritzung des Antigens einführt?

In der ersten Richtung stehen uns 2 Verfahren zur Verfügung: Beeinflussung der Milz durch kleine „stimulierende“ Gaben von Röntgenstrahlen und Stimulierung derselben durch kleine Mengen eines speziellen Antimilzserums.

Zum bezeichneten Zweck wurden die Röntgenstrahlen von *Manuchin* benutzt, und zwar, wie es scheint, nicht ohne Erfolg; bis zu einem gewissen Grade wurde auf diesem Wege eine mildernde Wirkung scheinbar erzielt.

Unsererseits wählten wir das andere Verfahren, da es neu und in gewissem Sinne eleganter *, obwohl, wie zugegeben werden muß, auch verwickelter ist, wovon weiter unten ausführlicher die Rede sein wird.

Vorher scheint es uns jedoch Beachtung zu verdienen, uns davon zu überzeugen, ob nicht die Milz, die im Ergebnis der Sensibilisierung in einen Zustand der Depression geraten ist, durch einfache Entnahme aus dem sensibilisierten Organismus und ihre Aufbewahrung außerhalb desselben im Verlauf von 24 Stunden von neuem in den normalen Zustand zurückversetzt werden kann.

Die Veranlassung zu dieser Frage gab folgender Umstand.

Es liegen Hinweise vor, daß die Leber für die Sensibilisierung notwendig ist. Es fragt sich nun, warum? Gehen nicht von hier etwa Hemmungsantriebe zur Milz, um so mehr, als zwischen jenem und diesem Organ bezüglich der Wirkung auf die Leukocyten ein Antagonismus besteht? **.

Die Methodik blieb in diesem Fall in der Hauptsache die gleiche wie in den früheren Versuchen, d. h. zum Versuch wurden Hunde benutzt, die mit 5 ccm normalen Pferdeserums anaphylaktisiert wurden; die Milz wurde bald im Beginn, bald am Ende der Sensibilisierung entnommen und im Apparat auf ihre leukocytolytischen Eigenschaften durch Zusatz

* Überdies wird eine stimulierende Wirkung der Röntgenstrahlen von vielen bezweifelt.

** Vgl. G. P. Ssacharoff und S. S. Subow, l. c.

von Perfusionsflüssigkeit (Leukocytolysin) zu den Leukocyten (genauer dem Blut) eines normalen Hundes * und Zählung derselben in der Thoma-Zeisschen Kammer, zuerst nachdem die Röhrchen mit den Gemischen im Thermostat 4 Stunden und dann 20 Stunden gestanden hatten, geprüft. Sodann wurde die Milz in der Kälte bis zum nächsten Tage aufbewahrt (aus den vorausgegangenen Versuchen war es bekannt, daß die in der Kälte aufbewahrte normale Milz ihre leukocytolytischen Eigenschaften fast gänzlich beibehält) und sodann die Untersuchung von neuem angestellt.

Versuch 1.

Milz 3 Tage nach Beginn der Sensibilisierung entnommen.

	Ausgangszahl der Leukocyten in 1 ccm	Zahl der Leukocyten nach 4 Std.	Abnahme der Leukocyten in %	Zahl der Leukocyten nach 20 Std.	Abnahme der Leukocyten in %
1 0,6 Blut + 0,4 Milzsekret von einem sensibilisierten Hund	4000	3800	5,0	3600	10,0
2 0,6 Blut + 0,4 Ringer	4000	3600	10,0	3400	15,0
3 0,6 Blut + 0,4 Milzsekret eines normalen Hundes	4200	2200	47,6	2000	52,3

Dieselbe Milz nach ihrer Aufbewahrung im Verlauf von 24 Stunden:

	Ausgangszahl der Leukocyten	Zahl der Leukocyten nach 4 Std.	Abnahme in %
1 0,6 Blut + 0,4 Milzsekret	5200	4000	23,0
2 0,6 Blut + 0,4 Ringer	4200	4000	4,7

Versuch 2.

Milz 3 Wochen nach Beginn der Sensibilisierung entnommen.

	Ausgangszahl der Leukocyten	Zahl der Leukocyten nach 4 Std.	Abnahme in %	Zahl der Leukocyten nach 20 Std.	Abnahme in %
1 0,6 Blut + 0,4 Milzsekret von einem sensibilisierten Hund	6000	5600	6,6	5000	16,6
2 0,6 Blut + 0,4 Ringer	6400	6000	etwa 6,4	5600	12,5

Dieselbe Milz am nächsten Tage:

1 0,6 Blut + 0,4 Milzsekret von einem sensibilisierten Hund	4200	4000	etwa 4,8	3600	14,2
2 0,6 Blut + 0,4 Ringer	4800	4600	4,1	4200	etwa 12,5

*Vgl. G. P. Ssacharoff und S. S. Subow, l. c.

Bis zu einem gewissen Grade rechtfertigten somit die Versuche unsere Erwartungen: zu Beginn der Sensibilisierung kann die Herabsetzung der Milz zur Hälfte beseitigt werden, später jedoch wird sie zu einer dauernden, und die Lösung des Organs aus seinem Zusammenhang mit dem ganzen Körper allein genügt bereits nicht mehr, um es aus diesem Zustand herauszubringen. Ob es sich jedoch dabei um eine Beseitigung der Hemmungsantriebe von der Leber zur Milz oder um eine unvollständige Blockierung dieser im reinen physikalisch-chemischen Sinne handelt, darüber sagen die angeführten Versuche noch nichts aus, übrigens ist dies auch vom Gesichtspunkt der von uns zu lösenden Hauptaufgabe aus von keiner wesentlichen Bedeutung.

Wir gehen nunmehr zur Beschreibung der grundlegenden Versuche über.

1. Versuche mit Antimilzserum.

Nach dem Gesetz von *Arndt-Schulz* besitzen die cytotoxischen Sera je nach der Menge eine zwiefache, einander geradezu entgegengesetzte Wirkung: große Gaben setzen herab und zerstören, kleine Gaben reizen im Gegenteil das entsprechende Organ. Da jedoch das Gesetz von *Arndt-Schulz* für stark wirkende Stoffe keine allgemeine Bedeutung besitzt (wir erinnern z. B. an das Morphium), so macht sich das Bedürfnis geltend, das Gesagte besonders für die Cytotoxine zu begründen.

*Metschnikoff*⁴ und *Belonowsky*⁵ zeigten die Geltung des bezeichneten Gesetzes für die Hämolysine, *Besredka*⁶ für die Leukotoxine: sowohl die Zahl der roten Blutzellen als auch die Hämoglobinmenge wachsen unter dem Einfluß kleiner Gaben hämolytischen Serums an, im gleichen Sinne verändert sich auch die Anzahl der weißen Blutkörperchen infolge der Einführung kleiner Mengen leukotoxischen Serums⁴. Das blutbildende System wird folglich unter den bezeichneten Verhältnissen in bestimmter Richtung gereizt. Eine entsprechende antreibende Wirkung hat man daher vollen Grund auch von kleinen Gaben anderer cytotoxischer Sera zu erwarten. Dies ist der recht einfache Gedankengang, der uns zur Anwendung des Antimilzserums veranlaßt hat. Aber da stellt sich andererseits auch eine Schwierigkeit ein.

Diese besteht in der Gabenbemessung: allzu kleine Gaben entbehren ja jeglicher Wirkung; vergrößern wir dagegen die Mengen, so laufen wir Gefahr, anstatt der antreibenden eine herabsetzende Wirkung zu erzielen. Man muß daher ausprobieren und sich als Maßstab der leukocytolytischen Wirkung bedienen. Allerdings hätte es sich ereignen können, daß auch die an und für sich reizende Gabe Antimilzserums die Milz aus dem Zustand der Lähmung zu bringen nicht imstande wäre; in diesem Falle stände uns die normale Milz zu Diensten, und zwar in dem Sinne, daß die normale Milz unter diesen Verhältnissen ihre gewöhnliche leukocytolytische Wirkung steigern mußte; reagiert jedoch die Milz des sensibilisierten Tieres auf dieselbe Gabe cytotoxischen

Serums nichtsdestoweniger nicht, und erfolgt nicht wenigstens teilweise eine Befreiung vom Zustand der Depression, so liegt dies offenbar nicht so sehr an der Gabe als solcher, als vielmehr an der Tiefe der Lähmung.

Das Antimilzserum wurde nach dem gewöhnlichen Verfahren gewonnen: Immunisierung von Kaninchen mit einer Emulsion aus Hundemilz. Gleich darauf wurde das Serum auf Aktivität nach der üblichen Methode der Komplementablenkung geprüft, und wenn es sich als brauchbar erwies, zu den Versuchen benutzt. Diese wurden in der Weise vorgenommen, daß man zuerst zum Zweck des Vergleichs und der Orientierung über die Dosierung den Einfluß des Antimilzserums auf die deprimierte Milz in einer doppelten Reihe von Parallelversuchen — im Apparat für isolierte Organe nach dem oben beschriebenen Verfahren und am Tier mit dem Kymographion — prüfte, später jedoch, nach Feststellung der Dosierung, nach dem letzten Verfahren allein (Probe auf Shock).

Versuch 3.

Es wurden 4 Hunde genommen: von ihnen 2 für die Untersuchung der Milz im Apparat, die anderen 2 für die Prüfung auf Shock mit dem Kymographion. Alle wurden sie am 10. 4. 28 durch Einspritzung von 5 ccm normalen Pferdeserums unter die Haut sensibilisiert. In der Folge wurde allen wiederholt frisches Antimilzserum in der unten bezeichneten Reihenfolge und Menge eingespritzt.

Hund Nr. 1, Gewicht 15000 g.

Am 11. 4. 1 $\frac{1}{2}$ ccm frisches Antimilzserum unter die Haut gespritzt						
„ 17. 4. 2 $\frac{1}{2}$ ccm	“	“	“	“	“	“
„ 21. 4. 3 $\frac{1}{2}$ ccm	“	“	“	“	“	“

Am 25. 4. das Tier durch Verbluten getötet. Die Aktivität der Milz wurde im Apparat für isolierte Organe geprüft.

		Ausgangs-zahl der Leuko-cyten	Zahl der Leuko-cyten nach 4 Std.	Abnahme in %	Anzahl der Leuko-cyten nach 20 Std.	Abnahme in %
1	Milzsekret *	10 800	8 600	20,3	6200	etwa 42,6
2	Ringer	11 000	10 400	5,4	9200	16,3

Hund Nr. 2, Gewicht 14500 g.

Am 11. 4. 1 ccm frisches Antimilzserum unter die Haut gespritzt						
„ 17. 4. 2 ccm	“	“	“	“	“	“
„ 21. 4. 3 ccm	“	“	“	“	“	“
„ 29. 4. 5 ccm	“	“	“	“	“	“

Am 2. 5. Prüfung auf Shock: 3 ccm normalen Pferdeserums in Blutadern gespritzt. Ergebnis: verlangsamter und abgeschwächter Shock. Druck sank zwar, begann sich jedoch bald (nach 5 Min.) wiederherzustellen und kehrte rasch (nach 13—15 Min.) zur Norm zurück. Von den übrigen Erscheinungen bloß eine gewisse Erschütterung am Anfang; keine Leistungsherabsetzung.

* Der Kürze halber anstatt 0,6 Blut und 0,4 Milzsekret usw. (s. Versuche 1 und 2). Die Leukocyten überall von normalem Hunde.

Hund Nr. 3, Gewicht 16 100 g.

Am 11. 4. 1 ccm frisches * Antimilzserum subcutan injiziert

„ 16. 4. 5 ccm „ „ „ „ „

„ 21. 4. 7 ccm „ „ „ „ „

Am 25. 4. wurde das Tier durch Verbluten getötet. Aktivität der Milz im Apparat für isolierte Organe geprüft.

		Ausgangszahl der Leukozyten	Zahl der Leukozyten nach 4 Std.	Abnahme in %	Anzahl der Leukozyten nach 20 Std.	Abnahme in %
1	Milzsekret	10 000	6 600	34,0	6000	40,0
2	Ringer	11 000	10 400	5,4	9200	16,3

Hund Nr. 4, Gewicht 12 400 g.

Am 11. 4. 1 ccm frisches Antimilzserum unter die Haut gespritzt

„ 16. 4. 5 ccm „ „ „ „ „

„ 21. 4. 7 ccm „ „ „ „ „

„ 29. 4. 9 ccm „ „ „ „ „

Am 2. 5. Prüfung auf Shock: Einspritzung in eine Blutader von 3 ccm normalen Pferdeserums. Ergebnis: Sinken des Druckes und stuporöser Zustand. Erholung langsamer als beim Hund Nr. 2. Effekt schwach.

Im angeführten Versuch ist die Gleichheit der Bedingungen für die Tiere dieser und jener Reihe (d. h. für die, die in dem einen Fall zur Prüfung der isolierten Milz und in dem anderen zur Prüfung auf Shock vorbereitet wurden) sowohl hinsichtlich der Menge des eingebrachten Antimilzserums als auch hinsichtlich der Zwischenzeit zwischen der letzten Einspritzung und dem Schlußzeitpunkt des Versuchs bis zu einem gewissen Grade gewahrt, aber nicht mit der größten Strenge, infolgedessen kann als wesentliche Ergänzung folgender strenger vereinheitlichter Versuch dienen.

Versuch 4.

Es wurden 6 Hunde genommen, davon dienten 3 zur Prüfung der Milz im Apparat und die übrigen 3 zur Prüfung auf Shock. Alle wurden am 23. 12. 28 durch die Einspritzung von 5 ccm normalen Pferdeserums unter die Haut sensibilisiert. Alle erhielten sie in einer gewissen Reihenfolge und in bestimmten Mengen Antimilzserum.

Gewicht der Hunde:

Nr. 1 12 700 g Nr. 4 15 500 g

Nr. 2 13 500 g Nr. 5 11 500 g

Nr. 3 15 500 g Nr. 6 11 500 g

Die ersten 4 Hunde erhielten unter der Haut Antimilzserum
am 24. 12. 28 je 1 ccm am 5. 1. 29 je 5 ccm
am 30. 12. 28 je 2 ccm am 10. 1. 29 je 7 ccm

* Im Verlauf der Versuche war es schwierig, in jedem Augenblick frisches, d. h. höchstens eintägiges, Immunserum zur Hand zu haben. In solchen Fällen wurde dieses zur größeren Sicherheit mit frischem normalem Kaninchenserum komplementiert, obwohl die Aktivierung im Hundeorganismus so wie so auch ohne dies hätte erfolgen müssen.

Die beiden letzten dagegen:

am 24. 12. 28 je 1 ccm am 5. 1. 29 je 3 ccm
am 30. 12. 28 je 2 ccm am 10. 1. 29 je 5 ccm

Am 13. 1. 29 alle 6 Hunde einer Prüfung unterzogen.

A. Versuch mit isolierten Milzen.

		Ausgangszahl der Leukozyten	Zahl der Leukozyten nach 4 Std.	Abnahme in %	Zahl der Leukozyten nach 20 Std.	Abnahme in %
1	Milzsekret eines normalen Hundes (Vergleichstier)	12 200	9 200	24,6	7 000	42,6
2	Milzsekret von Hund Nr. 6 . . .	12 000	11 600	8,2	10 000	21,3
3	Milzsekret von Hund Nr. 2 . . .	12 000	9 800	18,3	7 600	36,6
4	Milzsekret von Hund Nr. 3 . . .	11 600	8 400	etwa 27,6	7 400	36,2
5	Ringer	11 800	11 400	3,4	10 400	etwa 12,0

B. Versuch mit dem Kymographion auf Shock.

3 Hunde von den obigen, und zwar Nr. 1, 4 und 5, erhielten je 5 ccm normalen Pferdeserums in Blutader.

Ergebnis. Bei allen 3 Hunden rasches Sinken des Blutdruckes, aber bei den ersten 2 auch rasches Ansteigen desselben (Abb. I, Hund Nr. 4). Bei dem Hund Nr. 5 dagegen nicht nur sehr starkes, sondern auch dauerndes Sinken.

Eine Reizung der gelähmten Milz auf dem oben bezeichneten Wege ist somit erreichbar, und die gewählten Mengen sind im allgemeinen für den in Rede stehenden Zweck brauchbar. Dabei herrscht eine gewisse Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Versuche im Apparat mit dem Kymographion: so hatte im Versuch Nr. 3 die Milz des Hundes Nr. 1 unter dem Einfluß der bezeichneten Behandlung den Zustand verminderter Leistung bis zu einem gewissen Grade verlassen, aber nur höchstens ungefähr zur Hälfte (wie unsere früheren zahlreichen Beobachtungen gezeigt hatten, beträgt die leukocytolytische Wirkung der normalen Milz nach 4 stündigem Stehen der Röhrchen im Thermostat 32—40%), und dementsprechend konnte auch bei dem Hund Nr. 2 beim Versuch mit dem Kymographion nur eine mäßigende, aber durchaus nicht kupierende Wirkung festgestellt werden. Ähnliches wäre auch von den Ergebnissen der Versuche an den Hunden Nr. 2, 3, 1 und 4 im Versuche 4 zu sagen.

Freilich standen bei den ersten 2 von den aufgezählten Hunden die Milzen hinsichtlich des leukocytolytischen Erfolgs der eines normalen Hundes nahe, hier hatte sich jedoch auch die normale Milz aus irgend-einem unaufgeklärten Grunde als weit unter der Norm tätig erwiesen, und zwischen den Ergebnissen der Versuche an den Hunden Nr. 5 und 6

in demselben Versuch 4 äußerte sich die Übereinstimmung darin, daß bei diesem, vielleicht in Abhängigkeit von der geringeren Menge des eingeführten Antimilzserums, die Leistungsminderung sich als widerstandsfähiger erwies; dauernder war auch das Sinken des Blutdrucks beim Hund Nr. 5, dessen Gewicht dem des vorigen gleich war und der genau die gleiche Menge Antimilzserum erhalten hatte. Und nur zwischen den Ergebnissen für die Hunde Nr. 3 und 4 in Versuch 3 herrscht keine Übereinstimmung (Anstieg bis zur Norm beim Hund Nr. 3; fast völlig mangelnde Beeinflussung des Shocks beim Hund Nr. 4).

Die Frage nach der Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Versuche mit der isolierten Milz und mit dem Kymographion bot für uns, wie unschwer zu begreifen, ein ganz besonders großes, ausschließliches Interesse dar, denn wenn es sich im ersten Fall herausgestellt hätte, daß die Depression zu beseitigen ist, während eine Beeinflussung des Shocks ausgeblieben wäre, so hätte dieser Umstand ohne weiteres für die völlige Gleichgültigkeit der Auschaltung der leukocytolytischen Funktion der Milz für den Mechanismus des anaphylaktischen Shocks gesprochen. Da jedoch eine solche Unstimmigkeit, wie gesagt, nicht vermerkt wurde, sondern im Gegenteil in dieser Beziehung ein gewisser Parallelismus festgestellt werden konnte, so lag die Veranlassung vor, die Beobachtungen in derselben Richtung fortzusetzen, aber bereits ohne Vergleichsversuche im Apparat, in der Hoffnung, ein überzeugenderes Ergebnis zu erzielen.

Hier war von wesentlicher Bedeutung die Frage nach den Mengen des Pferdeserums. Es tauchte die Frage auf, ob es nicht an das zu analysierende Moment allzu hohe Anforderungen stellen hieße, wenn man dem Tier bei der wiederholten Einspritzung die für Hunde übliche Menge desselben, nämlich 5 ccm, in Blutadern einführt? Handelt es sich um eine Vergiftung, so ist ja immerhin Zeit für die Neutralisierung der sich vom artfremden Eiweiß abspaltenden giftigen Atomkomplexe durch das Leukocytolysin erforderlich,



Abb. 1. Versuch 4. Hund 4. Bei (x) PS oder bloß (x) überall Einführung des Pferdeserums.

und mehr als den ungewöhnlich raschen Anstieg des lawinenartig gesunkenen Blutdrucks ist unter diesen Verhältnissen wohl schwer zu erwarten, dem Sinken des Druckes auf diesem Wege und bei einer solchen Mengenbemessung des Antigens vorzubeugen ist vielleicht nicht gerechtfertigt.

Auf der Suche nach solchen augenfälligen Ergebnissen zogen wir es vor, uns am Anfang an verhältnismäßig kleinere Gaben von 1—2 ccm Pferdeserum zu halten, in Anbetracht des Umstands, daß einige Forscher wie z. B. Awerjanow⁷, einen Shock bei Hunden regelmäßig auch mit 0,5 ccm desselben Serums bei seiner Einspritzung in Blutader erzielten.

Untenstehende Angaben können als Beleuchtung der Ergebnisse einer solchen Versuchsreihe dienen.

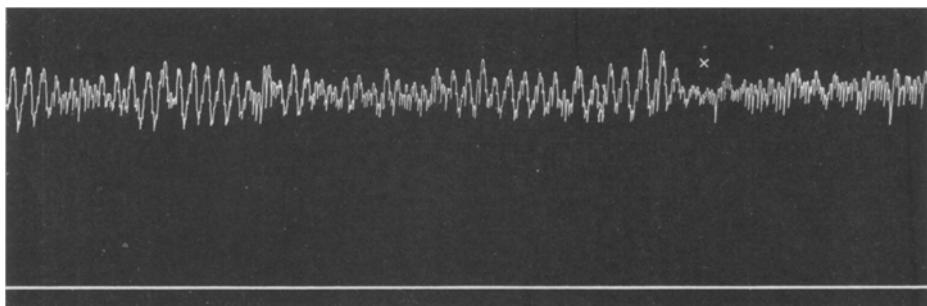


Abb. 2. Versuch 5. Hund 1.

Versuch 5.

4 Hunde am 16. 5. 29 mit 5 ccm normalen Pferdeserums sensibilisiert.

Gewicht des 1. Hundes 13 600 g	Gewicht des 3. Hundes 10 000 g
„ „ 2. „ 9 700 g	„ „ 4. „ 13 000 g

Alle 4 sodann einer Behandlung mit Antimilzserum in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Mengen unterzogen.

Am 17. 5. wurde 1 ccm frisches	Antimilzserum unter die Haut gespritzt
„ 23. 5. „ 1 ccm komplementiertes	“ “ “ ”
„ 29. 5. „ 3 ccm	“ “ “ ”
„ 5. 6. „ 4 ccm	“ “ “ ”

Am 7. 6. Prüfung auf Shock: dem 1. und 3. Hund wurde je 1 ccm, dem 2. Hund $1\frac{1}{2}$ ccm und dem 4. Hund 1,8 ccm Pferdeserum in Blutader gespritzt.

Ergebnis. Beim 1. Hund kein Shock (Abb. 2), beim 2. ging der Blutdruck herunter, begann jedoch nach 2 Min. zu steigen. Nach 10 Min. sieht der Hund ruhig aus, weist keinerlei Anzeichen von Erregung oder Lähmung auf, der Druck steigt jedoch nicht weiter (Dauer des Versuchs 15 Min.). Beim 3. Hund ging der Druck ebenfalls herunter, zeigte jedoch bereits nach 2 Min. eine Neigung zum Ansteigen; weiter ging jedoch der Anstieg nicht (Versuchsdauer 20 Min.). Schließlich sank beim 4. Hund der Druck zwar ebenfalls, begann aber nach 5 Min. stetig zu steigen und

erreichte nach 15 Min. eine der Norm nahe Höhe. Die übrigen Erscheinungen waren bei allen Hunden geringfügig; allgemeiner Eindruck einer mäßigen Wirkung.

Im angeführten Versuch wurde ebenso wie in den vielen anderen ähnlichen Versuchen mit der Behandlung der Tiere mit dem Antimilzserum zum Zweck der Erzielung einer Höchstwirkung gleich vom nächsten Tag nach dem Anfang der Sensibilisierung begonnen, und die Zwischenzeit zwischen der letzten Einspritzung und der Prüfung auf Shock betrug 2 Tage. Die Anordnung des unten folgenden Versuches war jedoch eine andere: hier erfolgte die Behandlung mit Antimilzserum an anderem Zeitpunkten, und zwar wurde mit ihr bei 2 von den 4 Hunden (Nr. 1 und 3) erst 1 Woche nach dem Anfang der Sensibilisierung begonnen und wurde 4 Tage vor der Prüfung auf Shock abgeschlossen, bei den 2 übrigen dagegen wurde sie 19 Tage nach Beginn der Sensibilisierung eingeleitet und 3 Tage vor der Prüfung abgeschlossen. Außerdem wurden den ersten beiden Hunden alle Portionen des cytotoxischen Serums ebenso wie in mehreren anderen ebensolchen Versuchen in Zwischenräumen von 6 Tagen eingeführt, den letzten 2 dagegen eine nach der anderen 3 Tage lang.

Versuch 6.

4 Hunde. Gewicht des 1. Hundes	12 400 g	Gewicht des 3. Hundes	10 300 g
„ 2. „	12 300 g	„ 4. „	10 300 g

Alle am 20. 4. 28 mit 5 ccm Pferdeserum unter die Haut sensibilisiert, wobei der 1. und der 3. Hund in der Folge erhielten:

am 27. 4. 2 cem frisches Antimilzserum unter die Haut					
„ 4. 5. 3 cem aktiviertes	„	„	„	„	„
„ 11. 5. 4 cem frisches	„	„	„	„	„

Der 2. und der 4. Hund dagegen erhielten:

am 10. 5. 2 cem frisches Antimilzserum unter die Haut					
„ 11. 5. 3 cem	„	„	„	„	„
„ 12. 5. 4 cem	„	„	„	„	„

Am 15. 5. Versuch mit dem Kymographion an allen 4 Hunden: der 1. und 3. erhielten je 2 ccm Pferdeserum intravenös, der 2. und 4. dagegen je 1 ccm. Ergebnis: bei allen 4 Hunden klassischer Shock, ohne Tendenz zur Steigerung des Blutdrucks im Verlauf von 20 Min.

Der letzte Versuch, der durchweg ein negatives Ergebnis aufwies, könnte als eine Art Vergleich der Wirksamkeit verhältnismäßig kleiner Mengen Pferdeserum im Sinne der Fähigkeit, einen Shock zu erzeugen, dienen.

Gleichzeitig stellt es sich heraus, daß der Zeitpunkt des Beginns der Behandlung des Tieres mit Antimilzserum offenbar nicht gleichgültig ist: der Erfolg ist sicherer, wenn sie möglichst früh eingeleitet wird, gleich am nächsten Tag nach dem Beginn der Sensibilisierung; die Aussichten auf Erfolg sind bei einem späteren Eingreifen im Gegenteil

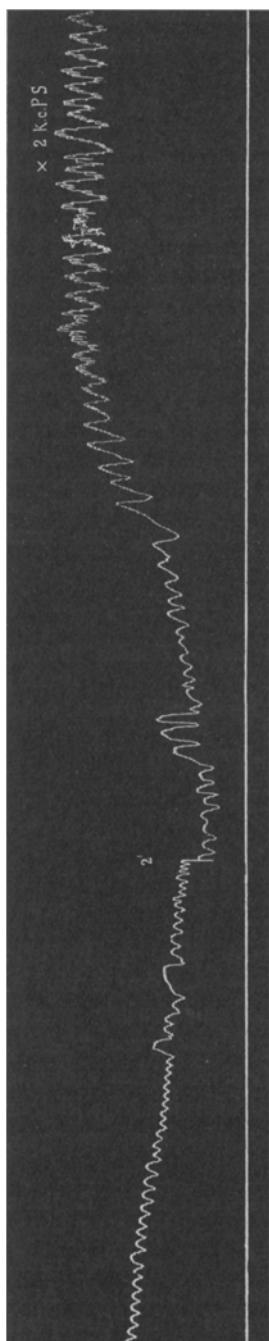


Abb. 3. Versuch 7. Hund 5.

geringer *. Dieser Umstand bedarf wohl kaum einer Erklärung; es genügt, sich zur Parallelle auf die Versuche 1 und 2 zu be rufen, die eine bedeutend länger dauernde Depression der Milz 3 Wochen nach Beginn der Sensibilisierung im Vergleich mit der selben nur 3 Tage nach dem Zeitpunkt der Sensibilisierung zeigten.

Somit gelingt es, mit Hilfe von Antimilz serum in reizenden Gaben bis zu einem gewissen Grade den anaphylaktischen Shock im Sinne einer mäßigenden Wirkung zu beeinflussen, das cytotoxische Serum stammte jedoch von Kaninchen, und deshalb war ein Vergleich in Gestalt von normalem Kaninchenserum erforderlich.

Versuch 7.

5 Hunde am 17. 8. 28 in der gewöhnlichen Weise mit je 5 ccm normalen Pferdeserums unter die Haut sensibilisiert.

Gewicht des 1. Hundes	14 000	g
„ „ 2. „	10 000	g
„ „ 3. „	12 300	g
„ „ 4. „	11 600	g
„ „ 5. „	12 500	g

Am 21. 8. erhielten alle Hunde je 1 ccm normalen Kaninchenserums unter die Haut,
am 27. 8. erhielten alle Hunde je 2 ccm normalen Kaninchenserums unter die Haut.

Am 1. 9. erhielten alle Hunde je 3 ccm normalen Kaninchenserums unter die Haut.

* Es besteht freilich noch ein Unterschied zwischen den Bedingungen der Versuche Nr. 5 und 6, und zwar ist, wie oben erwähnt, der Unterschied in der Dauer des Zeitraums zwischen der letzten Antimilzserumeinspritzung und dem resultierenden Moment des Versuchs enthalten, aber wenn eine Dauer von 4 Tagen Zweifel an der Tauglichkeit eines solchen Zeitraums für die Zwecke der Beibehaltung der anregenden Wirkung durch das Organ auch hervorrufen kann, so ist doch der Unterschied zwischen einem Intervall von 2 und von 3 Tagen bereits nicht so sehr groß. Übrigens sind hier dennoch einige interferierende Einflüsse möglich, die gegebenenfalls den Erfolg zu ändern vermögen (siehe weiter unten über das sog. „Auslöschungsphänomen“).

Am 5. 9. erhielten die 3 ersten und am 6. 9. die beiden letzten (folglich die einen 2 Tage und die anderen 1 Tag vor der Prüfung) je 4 ccm normalen Kaninchenserums unter die Haut.

Am 7. 9. Prüfung auf Shock: die ersten 4 Hunde erhielten je 1 ccm Pferdeserum in Blutader, der 5. Hund dagegen 2 ccm.

Ergebnis:

Beim 1. Hund kein Shock

„	2.	„	Shock,	aber nach 5 Min.	starkes Ansteigen des Blutdrucks
„	3.	„	“	“	4 „ setzt ein merkliches Ansteigen ein
„	4.	„	“	“	7 „ deutliches Ansteigen
„	5.	„	“	“	2 „ Anstieg. (Abb. 3, Hund 5.)

Versuch 8.

Ebenso wie im vorigen Versuch wurden 2 Hunde sensibilisiert (am 26. 6. 28). Gewicht des einen Hundes 10 500 g, des anderen 16 500 g.

Am 4. 7. erhielten beide je 1 ccm normalen Kaninchenserums

„	9. 7.	„	“	“	2 ccm	“	“
„	13. 7.	„	“	“	3 ccm	“	“

Am 15. 7. (folglich 2 Tage vor der Prüfung) erhielt der 2. Hund 4 ccm normalen Kaninchenserums, der 1. dagegen am 16. 7. (d. h. einen Tag vor der Prüfung) ebenfalls 4 ccm.

Am 17. 7. Prüfung auf Shock: beide Hunde erhielten in Blutader je 1 ccm Pferdeserum.

Ergebnis. Beim 1. Hund Shock und Ausbleiben einer Erhöhung des Druckes während der Dauer des ganzen Versuchs (20 Min), beim zweiten dagegen Ausbleiben einer Erniedrigung des Druckes, obwohl andere Erscheinungen, wie Speichelfluß, unwillkürlicher Kotabgang, stuporöser Zustand, vorhanden waren.

Somit ergibt wider Erwarten auch das normale Kaninchenserum eine Wirkung in dem uns hier angehenden Sinne, und zwar, man kann wohl sagen, keinen schlechteren als das Immunserum. Wie ist das zu verstehen?

Vor allem war es natürlich, daran zu denken, ob das Pferdeserum richtig dosiert wird, nämlich ob 1 ccm desselben bei der zweiten Anwendung ausreicht, um einen Shock unausbleiblich zu erzielen, um die rein individuellen Schwankungen auszugleichen, durch die man den Unterschied in den Ergebnissen des Versuchs 6 und der beiden folgenden hätte erklären können. Die besonders aus diesen Erwägungen heraus von uns ausgeführten Vergleichsversuche, die wir wegen ihrer Gleichförmigkeit und ihrer geringen allgemeinen Bedeutung hier nicht anführen wollen, zeigten uns wirklich die Möglichkeit solcher Schwankungen bei den oben angegebenen verhältnismäßig kleinen Mengen von Pferdeserum, und infolgedessen sahen wir uns veranlaßt, entgegen unserem Wunsch (siehe oben) zu größeren, für Anaphylaxieversuche an Hunden üblichen Gaben von 5 ccm zu greifen.

Eine andere Frage, die wir stellen mußten, ist die nach dem sog. „Auslöschungsphänomen“.

Im Jahre 1924 beschrieben Friedberger und S. Hjelt⁸ eine merkwürdige Erscheinung, die darin besteht, daß mit Hammelserum sensibilisierte Meerschweinchen sogar die zehnfache tödliche Gabe desselben Antigens ohne Shock in dem Fall

vertragen, wenn man ihnen vor der Prüfung auf Shock in Blutadern oder unmittelbar vor derselben oder mehrere Stunden vorher 1 ccm oder sogar 0,1 ccm normalen Kaninchenserums einspritzt. Dieses „löst“ gewissermaßen in irgendeiner Weise den Shock aus.

Umgekehrt erzeugt denselben Erfolg auch Hammelserum bei gegen Kaninchen-serum sensibilisierten Meerschweinchen.

Andere Sera, wie z. B. Pferde- oder Menschen serum, rufen bei gegen Hammel-serum sensibilisierten Meerschweinchen kein Auslöschen des Shocks hervor.

Die Verfasser unterscheiden dabei 2 Typen: einen Kaninchen- und einen Meer-schweinchentypus; jener umfaßt 2 Sera: Kaninchen- und Hammelserum, dieser 3: Pferde-, Hühner- und Meerschweinchenserum. Im Bereich ihres Typus vermögen die genannten Sera bezüglich des Auslöschungssphänomens einander zu vertreten.

Jetzt fragt es sich: sind nicht auch wir bei unseren Versuchen auf dieselbe Erscheinung gestoßen?

Soweit uns bekannt, hat in der bezeichneten Richtung (über das Auslöschungssphänonem) niemand an Hunden experimentiert, und dazu liegt auch wohl keine Veranlassung vor, da das in unseren Versuchen figurierende Kaninchen- und Pferdeserum, wie soeben hingewiesen, verschiedenen Typen angehören. Außerdem ist, wie es sich erweist, von ausschlaggebender Bedeutung die Art der Einführung des „aus-löschen“ Serums in den Organismus: dieses ergibt eine sofortige, mindestens 48 Stunden anhaltende Wirkung, wenn es ins Blut gespritzt wird; bei der Einspritzung in die Bauchhöhle dagegen wirkt das Serum nur schwach und mit bedeutender Verspätung, nämlich frühestens nach 48 Stunden. Die Einspritzung unter die Haut, bezüglich deren besondere Angaben fehlen, muß wohl noch langsamer wirken, jedenfalls nicht rascher als die intraperitoneale.

Gehen wir mit diesen Maßstäben an eine Bewertung der Ergebnisse unserer Versuche 7 und 8 heran, so sind wir wohl kaum berechtigt, sie als „Auslöschungssphänonem“ zu deuten. Wie dem auch sein mag, so war doch die Vornahme derselben Versuche mit größeren Mengen Pferdeserum geboten.

Versuch 9.

Am 7. 1. 29 wurden 5 Hunde in der gewöhnlichen Weise (mit je 5 ccm Pferde-serum unter die Haut) sensibilisiert.

Gewicht des 1. Hundes	14 500 g	Gewicht des 4. Hundes	12 000 g
„ 2. „	12 700 g	„ 5. „	12 500 g
„ 3. „	11 200 g		

In der Folge allen in der gleichen Weise normales Kaninchenserum in der unten bezeichneten Reihenfolge und Menge unter die Haut gespritzt.

Am 8. 1. erhielten alle je 1 ccm normalen Kaninchenserums	
„ 15. 1. „	2 ccm
„ 21. 1. „	3 ccm
„ 28. 1. „	5 ccm

Am 29. 1. Prüfung auf Shock: alle erhielten je 5 ccm Pferdeserum in Blutader.

Ergebnis:

Beim 1. Hund Fehlen von Shock.

Beim 2. Hund typischer Shock ohne merkliche Neigung zur Erhöhung des Blutdrucks während der ganzen Dauer des Versuches (20 Min.).

Beim 3. Hund Shock, Sinken des Blutdrucks. Dieser begann erst nach 15 Min. zu steigen und erreichte nach 30 Min. $\frac{2}{3}$ oder etwas über $\frac{2}{3}$ des normalen Druckes.

Beim 4. Hund hochgradiger Shock und sogar Tod.

Beim 5. Hund Shock, gewöhnliches Sinken des Druckes, aber auch rascher Übergang zum Ausgleich (nach 3—5—7 Min.).

Das Ergebnis ist, wie ersichtlich, ein recht buntscheckiges und zum Teil vom Standpunkt unserer Erwartungen aus ein günstigeres als im Versuche 7 und teilweise 8 (Unwirksamkeit des normalen Kaninchenserums bei den 3 Hunden Nr. 2, 3 und 4), andererseits sehen wir jedoch bei den beiden übrigen Hunden (Nr. 1 und 5) etwas anderes, wobei die Auslegung des Erfolgs des genannten Serums im Sinne der oben beschriebenen Erscheinung auch hier auf die gleichen Schwierigkeiten stößt wie in den beiden vorigen Versuchen (Wirkung trotz der nur eintägigen Zwischenzeit nach der Einspritzung unter die Haut, schon ganz abgesehen davon, daß Kaninchen- und Pferdeserum verschiedenen Typen angehören).

Die Durchführung einer Analogie zwischen den Ergebnissen unserer Versuche und denen von *Friedberger* und *S. Hjelt* würde wohl übrigens durch die nicht ganz gleichartigen Versuchsbedingungen hier und dort erschwert sein (wiederholte Einführung von Kaninchenserum bei uns, einmalige bei den genannten Verfassern; außerdem Unbestimmtheit der Gabe des Kaninchenserums, die für das Auslöschungssphänomen bei Hunden erforderlich ist).

Da jedoch, wie dem auch sein mag, die Tatsache eines mäßigenden Einflusses des normalen Kaninchenserums auf den anaphylaktischen Shock nicht in Abrede zu stellen ist, so verdiente es einige Beachtung, durch Versuche an der isolierten Milz nachzuschauen, ob nicht ihre leukocytolytische Funktion durch ein solches Serum ebenso wie durch ein Immunserum angeregt wird.

Versuch 10.

Am 1. 2. 29 wurden 2 Hunde auf die gewöhnliche Weise mit je 5 ccm normalen Pferdeserums unter die Haut sensibilisiert.

Gewicht des 1. Hundes 11 kg, des 2. 17 kg.

In der Folge die Hunde mit normalem Kaninchenserum behandelt, und zwar so, daß der eine Hund davon mehr, der andere weniger erhielt, und zwar wie folgt:

Der Hund Nr. 1 erhielt

am 2.2. 1.5 ccm frisches normales Kaninchenserum unter die Haut

“ 7. 2. 2,5 ccm “ “ “ “ “ “ “

„ 12. 2. 3,5 ccm „ „ „ „ „ „ „

Der Hund Nr. 2 erhielt

am 2. 2. 1,0 ccm frisches normales Kaninchenserum unter die Haut
 „ 7. 2. 5,0 ccm „ „ „ „ „ „
 „ 12. 2. 7,0 ccm „ „ „ „ „ „

Am 16. 2., nach 4 Tagen, wurden beide Hunde (ebenso wie im Versuch 3 mit Kaninchenimmunserum) durch Entbluten getötet und ihre Milzen in der gewöhnlichen Weise im Apparat auf Aktivität geprüft.

		Ausgangszahl der Leukozyten	Zahl der Leukozyten nach 4 Std.	Abnahme in %	Zahl der Leukozyten nach 20 Std.	Abnahme in %
1	0,6 Blut + 0,4 Milzsekret des Hundes Nr. 1	6800	5200	23,5	4600	32,3
2	0,6 Blut + 0,4 Milzsekret des Hundes Nr. 2	6000	5600	6,6	5200	13,3
3	0,6 Blut + 0,4 Ringer	6000	5800	3,3	5400	10,0
4	0,6 Blut + 0,4 Milzsekret eines normalen Hundes	8000	4000	50,0	3600	55,0

Versuch 11.

Am 5. 2. 29 wurden 4 Hunde mit je 5 ccm Pferdeserum unter die Haut sensibilisiert. Die Hunde von gleichem Gewicht: je 15 kg.

2 von ihnen erhielten in der Folge mehr frisches normales Kaninchenserum, die 2 anderen weniger, wie im vorigen Versuch.

Die beiden ersten Hunde erhielten:

am 6. 3. je 1 ccm normales Kaninchenserum
 „ 11. 3. „ 5 ccm „ „ „
 „ 16. 3. „ 7 ccm „ „ „

Die anderen beiden Hunde erhielten:

am 6. 3. je 1,5 ccm normales Kaninchenserum
 „ 11. 3. „ 2,5 ccm „ „ „
 „ 16. 3. „ 3,5 ccm „ „ „

Am 20. 3. die Tiere getötet und ihre Milzen im Apparat untersucht.

		Ausgangszahl der Leukozyten	Zahl der Leukozyten nach 4 Std.	Abnahme in %	Zahl der Leukozyten nach 20 Std.	Abnahme in %
1	Milzsekret des Hundes Nr. 1 . . .	5300	4600	13,2	4000	24,5
2	Milzsekret des Hundes Nr. 2 . . .	5600	4400	21,4	3800	32,1
3	Milzsekret des Hundes Nr. 3 . . .	4900	3300	32,7	2000	fast 59,2
4	Milzsekret des Hundes Nr. 4 . . .	4800	3000	41,7	2000	58,3
5	Ringer	5400	5000	7,4	(?)	(?)

Vergleicht man die Ergebnisse der letzten beiden Versuche mit denen des Versuchs 3, so zeigt es sich, daß geringe Mengen normalen Kaninchenserums die durch die Sensibilisierung deprimierte Milz ungefähr ebenso reizen wie das Immunserum (im Versuch 11 wirkte sogar jenes stärker als dieses und wies eine Wirkung innerhalb der für die normale Milz gewöhnlichen Grenzen auf). Was dagegen die Wirksamkeit größerer

Gaben anlangt, so ist ein gewisser Unterschied zwischen den Ergebnissen zu bemerken, eine starke, wenn man die Ergebnisse des Versuchs 10 mit denen des Versuchs 3, und eine bedeutend geringere, wenn man die Versuche 11 mit denen des Versuchs 3 vergleicht. Erstere könnte auf den Gedanken bringen, daß große Mengen normalen Kaninchenserums an und für sich herabsetzend wirken, daß beim Immunserum jedoch diese lähmende Wirkung durch die Anwesenheit von Cytotoxinen verschleppt wird, die sogar auch bei verhältnismäßig großen Mengen Serum reizend wirken, im Fall es von nicht bereits allzu großer Aktivität ist. Dies zwingt uns, mit unseren Schlüssen vorsichtig zu sein, offenbar kommt hier keine geringe Bedeutung auch rein individuellen Einflüssen zu. Jedenfalls kann man das eine sagen, daß kleinere Gaben normalen Kaninchenserums im Sinne der Anregung wirksamer zu sein scheinen als größere (innerhalb gewisser Grenzen natürlich).

Dieser Umstand vermag vielleicht ein gewisses Licht über eine Tatsache zu verbreiten, die sonst uns in Verlegenheit zu versetzen fähig wäre. Die Sache ist nämlich die, daß die Sensibilisierung eines Tieres mit artfremdem Eiweiß, wie wir dies früher feststellen konnten, die leukocytolytische Funktion der Milz gänzlich oder fast gänzlich ausschaltet, während es sich jetzt herausstellt, daß normales Kaninchenserum in gewissen Mengen die Milz nicht nur herabsetzt, sondern sogar ihren in bezug auf die leukocytolytische Wirkung herabgesetzten Zustand beseitigt. Anzunehmen, daß hier von ausschlaggebender Bedeutung die Eiweißart sei oder, genauer, daß zwischen dem Pferde- und dem Kaninchenserum, zwischen ihrer Wirkung auf die Milz irgendein wesentlicher Unterschied bestände, wäre sonderbar, obwohl andererseits das von Friedberger und S. Hjelt entdeckte Auslöschungsphänomen dafür spricht, daß zwischen bestimmten Serumarten hinsichtlich des in Rede stehenden Verhaltens ein geheimnisvoller Gegensatz obwaltet. Aber wiederum gehören das Pferde- und das Kaninchenserum nach den Angaben der beiden Forscher, wie bereits erwähnt, verschiedenen Typen an, während das Auslöschungsphänomen innerhalb desselben Typus erzielt wird. Es bleibt somit nichts anderes übrig, als an die anderen Versuchsbedingungen zu denken: an die Mengenbemessung und an die Wiederholung der Einspritzungen in dem einen und an ihre Einmaligkeit im anderen Fall.

In der Tat, obwohl die Sensibilisierung von Meerschweinchen bekanntlich mittels geringfügiger Gaben von artfremdem Eiweiß erfolgt, sind für Hunde dagegen infolge ihrer geringeren Empfänglichkeit für die Anaphylaxie und des größeren Körpergewichts bereits viel größere Mengen desselben für den gleichen Zweck erforderlich, nicht umsonst sind hier am häufigsten Gaben von 3—5 ccm gebräuchlich, während solche von 1—1,5 ccm, mit denen wir die Behandlung von Hunden mit Kaninchenserum beginnen, für Hunde von 10—15 kg ungenügend sind.

Bei dieser Gelegenheit wollen wir daran erinnern, daß bei der Einführung von artfremdem Eiweiß ins Blut die Leukocytolyse in der ersten Zeit eine gesteigerte ist, d. h. es liegt keine Lähmung, sondern eine Reizung der Milz vor.

Sodann ist die wiederholte Einführung von Antigen in den Organismus in Zwischenräumen von 5—6 Tagen und in steigenden Gaben bekanntlich das gewöhnliche Verfahren zur Immunisierung des Organismus, d. h. zur Schaffung von Verhältnissen, die der Anaphylaxie entgegengesetzt sind.

Wie dem auch sein mag, so ist von Wichtigkeit das eine: *in unseren Versuchen erwiesen sich sowohl das Antimilzimmunserum als auch das normale Kaninchenserum in bestimmten Mengen als stimulierendes Agens für die leukocytolytische Funktion der infolge der Sensibilisierung gelähmten Milz und unter entsprechenden Verhältnissen zeigten dieselben Sera ihre Fähigkeit, in einem gewissen Grade auf den anaphylaktischen Shock mäßigend zu wirken.*

Angesichts der soeben festgestellten Tatsache konnte uns das Auslösungsphänomen speziell nicht mehr beschäftigen, und es sei uns gestattet, uns hier auf eine einzige diesbezügliche Bemerkung zu beschränken, nämlich daß der Mechanismus dieser Erscheinung, soweit uns bekannt, nach wie vor ungeklärt geblieben ist. Es fragt sich nun: sind wir nicht berechtigt, auch hier an die Milz zu denken?

II. Versuche mit Milzextrakten.

A. Versuche an Hunden.

Der Zweck dieser Versuche bestand darin, zu ermitteln, ob man nicht durch Einführung bereits fertiger, leukocytolytische Eigenschaften besitzender Milzextrakte in den Organismus eines sensibilisierten Tieres den anaphylaktischen Shock kupieren oder wenigstens in irgendeinem Maße beeinflussen könne.

Hier mußte man jedoch vorher nach Möglichkeit die festen Bedingungen ermitteln, d. h. feststellen, in wie großer Menge und wann solche Extrakte einzuführen sind.

Die entsprechenden Orientierungsversuche wurden von uns sowohl mit Perfusionsflüssigkeit ausgeführt, gewonnen vermittelst der Durchspülung der isolierten normalen Hundemilz mit Ringerscher Flüssigkeit, mit denen wir anfangs zu experimentieren gedachten; als auch mit konzentrierten Milzextrakten, mit denen wir es in der Folge ausschließlich zu tun hatten (ihr Herstellungsverfahren siehe weiter unten).

Im ersten Falle war die Versuchsanordnung folgendermaßen beschaffen: Sowohl normalen als auch sensibilisierten Hunden wurde in Blutadern eine bestimmte Menge der oben bezeichneten Perfusionsflüssigkeit eingeführt, und in der gewöhnlichen Weise verfolgte man die Schwankungen der Leukozytenzahl bei ihnen im Blute in bestimmten Zeitintervallen, um den günstigsten Zeitpunkt für die wiederholte Einführung von artfremdem Serum (den Augenblick der höchsten Leukopenie)

festzustellen *. Zum Vergleich wurden anstatt des „Milzsekrets“ die gleichen Beobachtungen an anderen Hunden mit *Ringerscher Flüssigkeit* angestellt. Vor der Einspritzung der Perfusionsflüssigkeit wurde in denjenigen Fällen, wo die einzuführenden Mengen recht groß waren, zur Vermeidung einer künstlichen, wenn auch sehr geringen Plethora eine entsprechende Blutmenge entnommen. Echter Milzextrakt dagegen wurde nicht in Blutadern, sondern unter die Haut in einer Menge von 20 ccm eingeführt.

Gemäß diesen Vorversuchen kann man auf eine genügende Leukozyse (Abnahme um 30—50%) ungefähr 1 Stunde oder etwas darüber (1 Stunde 15 Min. bis 1 Stunde 20 Min.) nach der Einführung des Milzextrakts unter die Haut in der bezeichneten Menge rechnen **.

Dieser wurde bei Versuchen an Hunden in folgender Weise hergestellt (bei denen an Meerschweinchen meist anders, siehe unten).

Normale Hunde wurden durch Entbluten getötet und gleichzeitig damit die Organe durch eine Kanüle mit physiologischer Lösung durchgespült; die Milz wurde keimfrei zerkleinert und in einem Mörser ebenfalls mit physiologischer Lösung verrieben (1 g Organ auf 1 ccm Lösung), und der Extrakt durch eine doppelte Schicht Gaze filtriert. Auf die gleiche Weise stellte man auch die zum Vergleich dienenden Leberextrakte her.

Die Versuche mit diesen Extrakten hatten ungleiche Ergebnisse.

Versuch 12.

3 Hunde wurden mit je 5 ccm Pferdeserum unter die Haut sensibilisiert.

Gewicht des 1. Hundes	10 800 g
" 2. "	15 000 g
" 3. "	12 500 g

Nach Ablauf von 3 Wochen Prüfung auf Shock (je 1 ccm Pferdeserum intravenös). 1 Stunde vorher erhielt der 1. Hund 20 ccm Leberextrakt, die übrigen beiden dagegen je 20 ccm Milzextrakt unter die Haut.

* Richtiger wäre es im Grunde genommen, die Schwankungen nicht der Leukocytenzahl zu verfolgen, die bekanntlich recht schwankend ist und dem Einfluß verschiedener Faktoren unterliegt, sondern unmittelbar der leukocytolytischen Eigenschaften des Blutes; dieses ist jedoch bedeutend umständlicher als jenes, und eine unbedingte Notwendigkeit lag dafür dennoch wohl nicht vor, da die Leukopenie infolge der Einspritzung artfremder Stoffe ins Blut nach den Beobachtungen über die Leukolyse und entgegen der früheren Auffassung nicht so sehr durch das Hineintreiben der Leukocyten in die Capillaren der Organe, hauptsächlich der Lungen, als vielmehr durch ihre Zerstörung infolge der Steigerung der leukocytolytischen Funktion der Milz bestimmt wird.

** Unter den Versuchen mit der Perfusionsflüssigkeit gab es unter anderem auch solche, wo dasselbe Tier, d. h. das sensibilisierte und mit dieser Flüssigkeit behandelte, an welchem der Verlauf der leukocytolytischen Reaktion festgestellt wurde, auch auf Shock im Zeitpunkt einer genügenden Leukopenie geprüft wurde (in den anderen Fällen geschah dies umgekehrt getrennt, d. h. an verschiedenen, aber ungefähr gleich schweren und unter den gleichen Bedingungen lebenden Hunden). Da jedoch die Versuche dieser Art uns in gewissen Beziehungen (Notwendigkeit der Einführung größerer Flüssigkeitsmengen, ungenügend lange Dauer der Beobachtung des Shocks) nicht beweiskräftig genug schienen, so führen wir auch die auf diesem Wege gewonnenen Ergebnisse hier nicht an, sondern beschreiben nur die Versuche mit echtem Milzextrakt.

Ergebnis. Beim 1. Hunde Shock, Sinken des Blutdrucks bis auf 0; 15 Min. lang keine Neigung zur Erhöhung des Druckes. Beim 2. Sinken

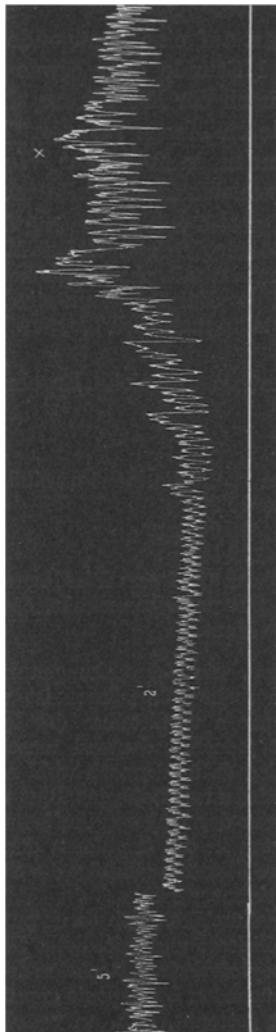


Abb. 4. Versuch 12. Hund 3.

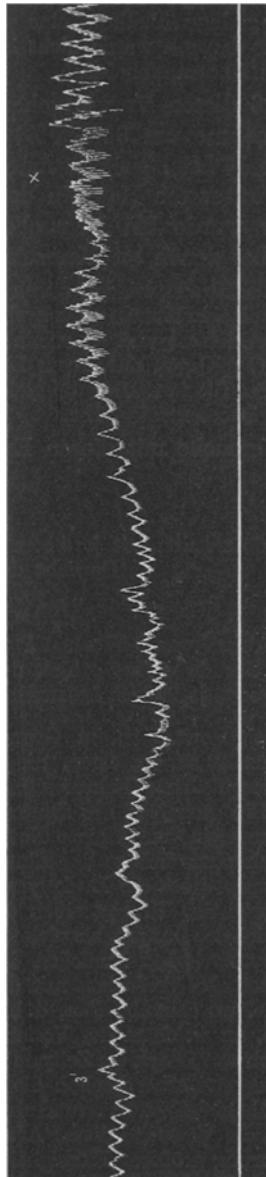


Abb. 5. Versuch 13. Hund 2.

des Druckes, aber ein hochgradig verlangsamtes, und etwas beschleunigte Wiederherstellung desselben und fast völliges Fehlen von Stupor. Beim

3. einiges Sinken des Druckes, aber fast sofortiges Wiederansteigen desselben, so daß er nach 5 Min. der Norm nahekommt. Habitus auch kein anaphylaktischer (Abb. 4).

In der Folge gingen wir zu 5 ccm Pferdeserum über. Wir führen bloß einen Teil der hierher gehörigen Versuche an, wobei wir sie hier und da zusammenfassen.

Versuch 13.

Es wurden in der gewöhnlichen Weise 5 Hunde mit je 5 ccm normalen Pferdeserums unter die Haut sensibilisiert.

Gewicht des 1. Hundes	14 000 g	Gewicht des 4. Hundes	13 800 g
„ „ 2. „	15 000 g	„ „ 5. „	12 000 g
„ „ 3. „	9 000 g		

Nach 3 Wochen Prüfung auf Shock (je 5 ccm Pferdeserum in Blutader). 1 Stunde vorher erhielt jeder Hund 20 ccm Milzextrakt unter die Haut.

Ergebnis. Beim 1. Hund Shock, Sinken des Blutdrucks. Nach 13 Min. Neigung zur Erhöhung des Druckes, das Ansteigen desselben dauert auch weiter fort. Immerhin ist der Erfolg ein geringer. Gegen Schluß des Versuches, der aber ganze 30 Min. dauerte, erreichte der Blutdruck über 80 mm.

Beim 2. Hund begann der Druck zu sinken, stellte sich jedoch sofort wieder her. Ausgesprochenes positives Ergebnis (Abb. 5).

Beim 3. Hund im allgemeinen die gleichen Erscheinungen wie beim vorigen (Sinken mit nachfolgendem raschem Ansteigen). Ebenfalls ausgesprochenes positives Ergebnis.

Beim 4. war das Ergebnis gleich Null (klassischer Shock), aber ihm war der Milzextrakt mit einer geringen Verspätung (1 Stunde, 20 Min.) eingeführt worden.

Beim 5. deutliches positives Ergebnis: kurzdauerndes und unbedeutendes Sinken des Blutdrucks und keinerlei Erscheinungen von Shock (Abb. 6).

Der folgende Versuch 14 hatte im Gegenteil mit Milzextrakt ein negatives Ergebnis, weshalb wir hier bloß auf 2 Versuche mit „Leberhunden“ eingehen.

Versuch 14.

Ebenso wie im vorigen Versuch Sensibilisierung von 6 Hunden.

Gewicht des 1. Hundes	14 000 g	Gewicht des 4. Hundes	15 000 g
„ „ 2. „	11 000 g	„ „ 5. „	10 000 g
„ „ 3. „	11 300 g	„ „ 6. „	10 400 g

Die ersten 4 erhielten vor der Prüfung auf Shock je 20 ccm Milzextrakt (die ersten beiden 1 Stunde und die übrigen 2 wegen der Verspätung 1½ Stunden vorher), die letzten 2 dagegen zum Vergleich je 20 ccm Leberextrakt (1 Stunde vorher) subcutan.

Das *Ergebnis* war bei den ersten 4 Hunden durchweg ein negatives. Bei den „Leberhunden“ dagegen war es folgendermaßen beschaffen:

Beim Hunde Nr. 5 klassischer, schwerer Shock ohne Neigung zum Ansteigen des Blutdrucks 30 Min. lang (Abb. 7).

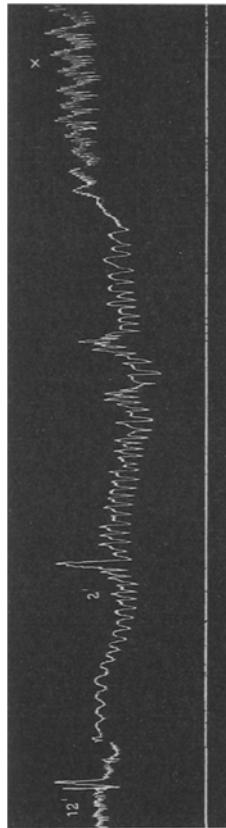


Abb. 6. Versuch 13. Hund 5.

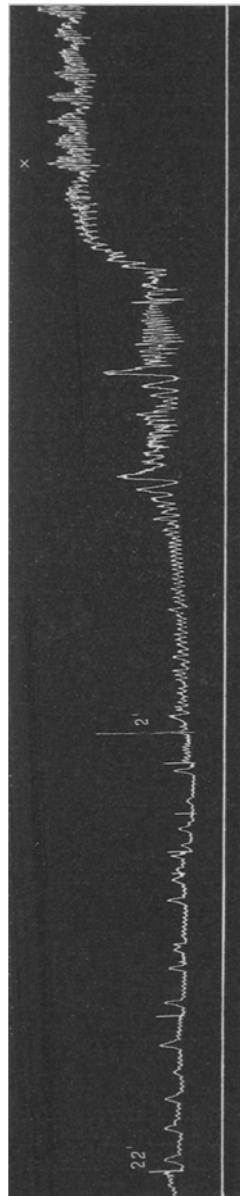


Abb. 7. Versuch 14. Hund 5.

Beim Hunde Nr. 6 ebenfalls Shock, aber weniger stark; das Sinken des Druckes ist nicht allzu bedeutend; anstatt Depression und Stupor hochgradige Erregung

(der Hund ist außerordentlich wild); nach 12 Min. stieg der Druck und kam nach 18 Min. der Norm nahe.

Schließlich bieten die beiden folgenden Versuche die Besonderheit dar, daß hier zum Unterschied von den vorigen Hauptversuchen die Menge der eingeführten Extrakte, um deutlichere Ergebnisse zu erzielen, obwohl wider Willen, eine dreimal so große war (60 ccm), selbstverständlich unter Berücksichtigung der Möglichkeit auch einer nichtspezifischen Beeinflussung des Shocks (Konzentration der Salze, vorübergehende geringe Plethora), in Gestalt entsprechender Kontrollen *.

Versuch 15.

4 Hunde sensibilisiert. Versuchsanordnung die gleiche (abgesehen von der Menge des eingeführten Extrakts).

Gewicht des 1. Hundes 17 kg	Gewicht des 3. Hundes 11 kg
„ „ 2. „ 13 kg	„ „ 4. „ 16 kg

Dem 3. Hund wurden genau 1 Stunde, dem 1. 1 Stunde 20 Min. (wegen der Verzögerung), dem 2. 1 Stunde 15 Min. und dem 4. $1\frac{1}{2}$ Stunden vor der Prüfung auf Shock (mit je 5 ccm Pferdeserum in Blutader) je 60 ccm Milzextrakt unter die Haut gespritzt.

Ergebnis. Beim 1. Hund Shock, aber weder Stupor, noch sonstige Erscheinungen. Nur Erschütterung und Sinken des Druckes. Beginn des Anstiegs nach 2 Min. Staffelförmig stieg der Druck nach 15 Min. bis auf 80 mm und darüber (anfangs betrug er 110 mm). Abschluß des Versuchs nach 18 Min.

Beim 2. Hund kein Shock, der Blutdruck schwankte nicht einmal (Abb. 8).

Beim 3. Hund starker Shock, Sinken des Drucks fast auf 0; wiederholtes Erbrechen usw. 20 Min. lang keine Neigung zur Steigerung des Druckes.

Beim 4. Hund Shock, Sinken des Druckes, aber bereits nach 2 Min. beginnender Anstieg, nach 10 Min. sind die systolischen Erhebungen bereits gut, nach 12 Min. ist der Druck bedeutend gestiegen, obwohl er auch nach 20 Min. die Norm noch nicht erreicht hat.

Versuch 16.

5 sensibilisierte Hunde.

Gewicht des 1. Hundes 14 000 g	Gewicht des 4. Hundes 11 800 g
„ „ 2. „ 14 200 g	„ „ 5. „ 13 200 g
„ „ 3. „ 15 600 g	

* Übrigens beträgt die Menge der Asche sowohl in der Milz als auch in der Leber nach *Slowzow*⁹ insgesamt etwa 1%, während nach *Ritz*¹⁰ speziell das NaCl sogar in einer Konzentration von 5% den Shock nicht beeinflußt. Was die Plethora dagegen anlangt, so ist diese erstens nicht gar so sehr bedeutend (die Menge der eingeführten Flüssigkeit betrug ungefähr $\frac{1}{10}$ der Blutmasse), und zweitens mußte im Verlauf einer Stunde in dieser Beziehung ein Ausgleich erfolgen.

Der 1. und 2. Hund erhielten 1 Stunde vor der Prüfung auf Shock (mit 5 ccm Pferdeserum in Blutadern) je 60 ccm physiologischer Kochsalzlösung unter die

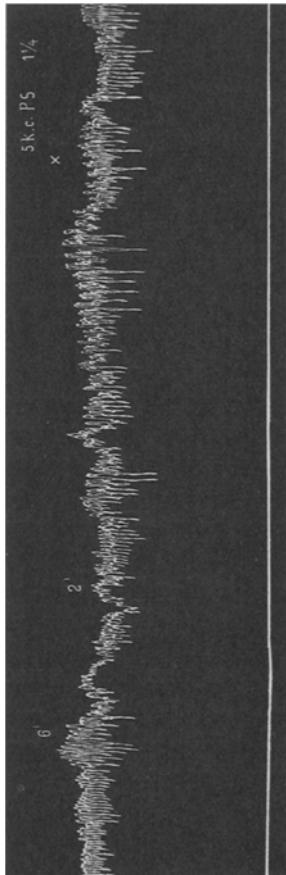


Abb. 8. Versuch 16. Hund 2.



Abb. 9. Versuch 16. Hund 3.

Haut) die übrigen 3 je 60 ccm Leberextrakt unter die Haut, $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ Stunden vorher.

Ergebnis. Beim 1. Hund rapider Shock, Stupor, Sinken des Blutdrucks,

nach 10. Min. jedoch Beginn eines staffelförmigen Ansteigens und nach 20 Min. bereits bedeutender Anstieg, sowie gute Erhebungen.

Beim 2. Hund das gleiche wie beim 1.; Beginn des Ansteigens um die gleiche Zeit, aber bedeutender Anstieg etwas früher, nach 15 Min.

Beim 3. Hund Shock, Erbrechen, Sinken des Blutdrucks bis auf 10 mm; nach dem Erbrechen Stupor. Nach 7 Min. sank der Druck noch mehr. Geringfügiges Ansteigen erst nach 14 Min., und erst jetzt beginnt der Stupor zu schwinden. Aber auch nach 20 Min. ist der Druck ein niedriger (nur ein wenig höher als er nach 3 Min. war). Dauer des Versuchs 25 Min. Nach 25 Min. Erhebungen bereits bedeutend besser, der Druck merklich höher, als er 3 Min. nach der Einführung des Serums war (Abb. 9).

Beim 4. Hund Shock, Sinken des Drucks, und nach 10 Min. noch keine Wendung zum Steigen; erst nach Ablauf von 10 Min. beginnt sich ein solches eben bemerkbar zu machen; nach 14 Min. ist der Anstieg etwas größer, aber erst nach 18 Min. deutlich größer. Dauer des Versuchs 25 Min. Die ganze Zeit über Stupor.

Beim 5. Hund Shock, Stupor (dieser bis zum Abschluß des Versuches); Sinken des Blutdrucks, aber bereits nach 6 Min. geringe Steigerung desselben; nach 8 Min. noch weitere Steigerung und nach 15 Min. bereits recht hoher Anstieg, ebenso sind die systolischen Elevationen recht bedeutend.

Überblicken wir das im zweiten Teil der vorliegenden Untersuchungen enthaltene Versuchsmaterial, so finden wir, daß der Milzextrakt in der hier in Rede stehenden Beziehung eine gewisse positive Wirkung aufweist, obwohl dies nicht in dem Sinne aufgefaßt werden darf, daß dies stets und überall unbedingt der Fall ist, denn in manchen Fällen kann dieser Erfolg auch ausbleiben. Fassen wir z. B. den vorletzten Versuch ins Auge, so sehen wir bei 2 Hunden eine mäßige, bei einem eine durchschlagende Wirkung und noch bei einem Hund ein negatives Ergebnis. Einen negativen Ausfall wiesen auch alle 4 Hunde im Versuch 14 auf, im Gegensatz zu dem, wenn auch nicht durchweg, ausgesprochen positiven in den Versuchen 12, 13 und 15. Ebenso stützen auch die Vergleichsversuche mit Leberextrakt im allgemeinen die mit dem Milzextrakt gewonnenen Ergebnisse, dennoch wies im letzten Versuch 16 der 4. Hund ein etwas unerwartetes Resultat auf.

Hier greifen offenbar irgendwelche Einflüsse ein, die sich einstweilen nicht deutlich genug bestimmen lassen.

Zur Ergänzung möchten wir nur darauf hinweisen, daß auch einfache, gewöhnliche Versuche mit anaphylaktischem Shock bei Hunden innerhalb gewisser Grenzen schwankende Ergebnisse hatten (vgl. wenigstens das oben über Versuche mit der Hervorrufung von Shock bei Hunden mit Hilfe von 1 ccm Pferdeserum Gesagte), und ebenso beschaffen sind auch nach unseren Beobachtungen sogar die Versuche an dem für Anaphylaxie

in solch höchstem Maße empfänglichen Objekt, wie es das Meerschweinchen ist (nicht immer das gleiche Ergebnis bei der intraperitonealen resultierenden Einführung des Antigens). Darüber jedoch, in welchem Grade derartige Schwankungen im gegebenen Fall die grundlegenden Schlußfolgerungen beeinflussen müssen, wird weiter unten zu sprechen sein.

B. Versuche an Meerschweinchen.

Einer Reihe mit Pferdeserum sensibilisierter Meerschweinchen ($\frac{1}{100}$ ccm unter die Haut) wurde 3 Wochen nach der Sensibilisierung und 1 Stunde vor der erfolgenden Einführung des Antigens Milzextrakt eingespritzt. Die einen erhielten je 1 ccm, die anderen je 2 ccm, die dritten je 3 ccm Milzextrakt unter die Haut. Der Extrakt wurde anfangs in derselben Weise zubereitet wie bei den Versuchen an Hunden, wobei die Milz Meerschweinchen entnommen wurde, in der Folge jedoch war das Herstellungsverfahren ein anderes und bestand in folgendem: Eine Kalbsmilz wurde vom Fett und Bindegewebe befreit, im Mörser unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung zu gleichen Teilen (1 Liter Flüssigkeit auf 1 kg Organ) verrieben, die Eiweißstoffe mit Alkohol gefällt und abfiltriert; sodann wurde der Alkohol abdestilliert und das Filtrat im Vakuum bis auf $\frac{1}{10}$ des Volumens konzentriert. Das Pferdeserum wurde bei der zweiten Einführung ins Herz gespritzt, und zwar in folgenden Mengen: denen, die 1 und 2 ccm Extrakt erhalten hatten, in einer Menge von 0,5 und denen, die 3 ccm erhalten hatten, in einer Menge von 1 ccm.

Die entsprechenden Vergleichsversuche wurden mit physiologischer Kochsalzlösung ausgeführt *.

Wir führen kurz die summarischen Ergebnisse der hierher gehörigen Versuche an.

Von den 23 Meerschweinchen, die Milzextrakt erhielten, gingen nur 5 zugrunde, während die übrigen 18 am Leben blieben (78,2%), wobei von der letztgenannten Gruppe die einen, die je 1 ccm Extrakt erhalten hatten, nur leichte Anzeichen von Anaphylaxie aufwiesen, während bei den übrigen solche meist fast gar nicht vorhanden waren.

Auf die einzelnen Gruppen verteilt sich dieses Material folgendermaßen; von den

4, die je 1 ccm Extrakt erhalten hatten, starben 2, blieben am Leben 2 = 50%
9, „ „ 2 ccm „ „ „ 3, „ „ „ 6 = 66%
10, „ „ 3 ccm „ „ „ 1, „ „ „ 9 = 90%

Berücksichtigt man jedoch bei der Berechnung nur die Ergebnisse der Versuche mit dem nach dem zweiten Verfahren hergestellten Milzextrakt, so waren sie in den einzelnen Kategorien folgendermaßen beschaffen; von den

* Richtiger wäre es eigentlich gewesen, zum Vergleich nicht eine physiologische Lösung (0,85%), sondern eine 1,54%ige Lösung von NaCl zu benutzen, da der Gehalt des etwas eingedickten Extraktes an diesem gerade der eben bezeichnete war (Gesamtgehalt an Asche = 0,697%); dieser Unterschied konnte jedoch im gegebenen Fall von keiner wesentlichen Bedeutung sein (siehe das in der vorigen Fußnote Gesagte).

4, die je 1 ccm Extrakt erhalten hatten, starben 2, blieben am Leben 2 = 50%
4, „ „ 2 ccm „ „ „ 0, „ „ „ 4 = 100%
3, „ „ 3 ccm „ „ „ 0, „ „ „ 3 = 100%

Die Vergleichsmeerschweinchen, die je 3 ccm einer physiologischen Lösung von NaCl (und 1 ccm Pferdeserum) erhalten hatten, gingen alle durchweg unter den Erscheinungen eines fast fulminanten Shocks zugrunde.

Die Ergebnisse der Versuche an Meerschweinchen stehen somit in der Hauptsache im Einklang mit denen an Hunden, sie besitzen nur vor diesen den Vorzug der Klarheit.

Was ist nun jetzt über die Grundfrage zu sagen, die den Gegenstand der vorliegenden Arbeit bildete?

Entsprechend unseren Erwartungen zeigte es sich, daß die Milz in der uns hier interessierenden Hinsicht durchaus nicht wirkungslos ist, die Buntscheckigkeit der erzielten Ergebnisse gestattet uns jedoch nicht, dem Ausfall der leukocytolytischen Funktion dieses Organs unter dem Einfluß der Sensibilisierung beim Mechanismus des anaphylaktischen Shocks eine ausschlaggebende Rolle zuzuschreiben.

Dasselbe gilt jedoch offenbar auch für die der Milz zugeschriebene Beeinflussung des Tonus des vegetativen Nervensystems. Die Sache ist nämlich die, daß vor kurzem *I. K. Mayr* und *C. Moncorps*¹¹ nebenbei ebenfalls eine mäßigende Wirkung des Milzextrakts auf den anaphylaktischen Shock bei Meerschweinchen feststellen konnten, die Verfasser waren jedoch an die Frage von einer anderen Seite herangetreten, sie beschäftigte nämlich die Beziehungen der Milz zur Eosinophilie, und nachdem sie in dieser Richtung einen Antagonismus festgestellt hatten, kamen sie natürlicherweise auf den Gedanken, diesen auch bei der Anaphylaxie zu zeigen, einen Zustand, der mit einer Eosinophilie einhergeht. Zwischen der Eosinophilie und dem Tonus des parasympathischen Nervensystems besteht jedoch bekanntlich ein enger Zusammenhang. Bei der Anaphylaxie liegen sowohl eine Eosinophilie als auch eine Vagotonie vor.

Als wir die Frage im Hinblick auf die Leukolyse untersuchten, traten wir an dieselbe, ohne uns im mindesten besonders mit ihr zu beschäftigen, eo ipso auch von dieser anderen Seite aus heran, bei der Bewertung der Ergebnisse darf man jedoch nicht vergessen, daß es in *quantitativer* Beziehung wohl kaum richtig wäre, die Bedingungen bei der einmaligen Einführung des aktiven Agens, wie dies bei den Versuchen mit den Extrakten der Fall war, mit denen bei der ununterbrochenen Tätigkeit des dieses Agens bildenden Organs gleichzustellen.

Schlüssefolgerungen.

Die Ausschaltung der leukocytolytischen Funktion der Milz im Ergebnis der Sensibilisierung mit artfremdem Eiweiß könnte auf den Gedanken

bringen, daß diese Erscheinung für den Mechanismus des anaphylaktischen Shock vom Gesichtspunkt der Vergiftungstheorie desselben aus nicht ganz gleichgültig sei. Beseitigen wir den Depressionszustand der Milz durch reizende Gaben von Antimilzserum, sowie durch die Einführung von Milzextrakt beim anaphylaktisierten Tier, so gelingt es in der Tat, in einer Reihe von Fällen den anaphylaktischen Shock zu beeinflussen, ihn entweder zu mäßigen oder bisweilen sogar zu kupieren. Die Buntscheckigkeit der dabei erzielten Ergebnisse spricht jedoch gegen eine entscheidende Bedeutung dieses Umstandes im bezeichneten Sinne.

Schrifttum.

- ¹ Mautner, H.: Arch. f. exper. Path. **82** (1918). — ² Ssacharoff, G. P. u. S. S. Subow: Z. exper. Med. **51**, H. 3/4 (1926). — ³ Ssacharoff, G. P. u. O. W. Krassowskaja: Z. exper. Med. **60**, H. 1/2 (1928). — ⁴ Metchnikoff, E.: Ann. Inst. Pasteur **14**. — ⁵ Belonowsky: Über den Einfluß der Injektionen verschiedener Dosen hämolytischen Serums auf die Anzahl der Blutelemente (russ.) 1902. — ⁶ Besredka, A.: Ann. Inst. Pasteur **14**. — ⁷ Awerjanow, P. P.: Wratsch. Delo (russ.) **1924**, Nr 7 u. 10. — ⁸ Friedberger u. S. Hjelt: Z. Immun.forschg **39** (1924). — ⁹ Slowsow: Lehrbuch der physiologischen Chemie (russ.). — ¹⁰ Ritz: Z. Immun.forschg **12** (1912).
¹¹ Mayr, J. K. u. C. Moncorps: Münch. med. Wschr. **1926**, Nr 43.
-