

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
[Vorstand: Geh. Hofrat Professor Dr. *M. B. Schmidt*].)

Neue Untersuchungen über die Entstehung des Amyloids.

Von

Erich Letterer,

a. o. Professor und Prosektor am Institut.

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen am 20. März 1934.)

Wenn der Wandel geistiger Strömungen der Erforschung eines Problems seinen zeitlich wechselnden Charakter aufprägt, so darf man das in besonderer Weise von der Arbeit am Problem der Amyloidose behaupten. Hatte man in den Zeiten vor *Virchow* diese eigentümliche, wächserne, speckige Umwandlung gewisser Organe lediglich ihrem Zustandsbild nach gekennzeichnet und beschrieben, so ordnete sie *Virchow*, unter Zuhilfenahme chemischer und morphologischer, aus der pflanzlichen und tierischen Gewebelehre entnommener Begriffe in sein System der Cellularpathologie ein, indem er auch hier die Zelle als den Träger der krankhaften Umwandlung des ganzen Organs bezeichnete und in der Umwandlung der zelleigenen Substanz in Amyloid, einen neuen, seiner Ansicht nach der Cellulose ähnlichen Stoff, eine Entartung der gesamten Zelle und damit der aus ihnen bestehenden Organe, sah.

Er hielt diese Anschauung der Umwandlung der Zellsubstanz in Cellulose auch dann noch aufrecht, als eindeutige Untersuchungen die Eiweißnatur der Amyloidsubstanz schon sicher erwiesen hatten (*Friedreich* und *Kekulé*).

Die morphologische Untersuchung brachte dem Amyloidproblem den nächsten Fortschritt in der prinzipiellen Feststellung *M. B. Schmidts* (2), daß die amyloide Substanz nicht aus der krankhaft umgewandelten Zelle sich bilde, sondern, zwischen den Zellen abgelagert, diese durch fortschreitende Ernährungsstörung zum Schwund bringt. Damit aber verließ die Amyloidfrage das eigentliche Gebiet des *Virchowschen* Begriffes der Degeneration und würde ihrem morphologischen Verhalten nach statt der auch heute noch immer gebräuchlichen Bezeichnung richtiger als *amyloide Infiltration* angesprochen.

In der Folge sehen wir alle herrschenden Zeitströmungen und Arbeitsweisen ihre Gedanken und Methoden auch an dem noch ungelösten Amyloidproblem erproben, immer wieder den sphinxhaften Fragenkomplex in einem kleineren Teilgebiet lösend, aber dennoch nicht imstande, grundsätzlich aufklärend zu wirken.

Immerhin sehen wir in den Arbeiten von *Krawkow*, *Nowack* u. a. die Ära einer vorwiegenden Bedeutung der Bakterien nicht ohne Berührung mit dem Amyloidproblem verstreichen. In unseren letzten zwei Jahrzehnten, in denen, auf der Cellularpathologie fußend, das große Ganze des Organismus in der Synergetik aller Zelleinzelfunktionen im Blickpunkt medizinisch-naturwissenschaftlichen Arbeitens steht und sich in Begriffen wie Entzündung, Abwehrleistung, Allergie und Stoffwechsel ausspricht, treten humoralpathologische Stoffwechselfragen in ihren Beziehungen zur Amyloidose besonders in den Vordergrund. Man fragt sich erneut nach dem chemischen Aufbau der Amyloidsubstanz und der Art und Weise seiner infiltrativen Ablagerung aus einem gestörten Stoffwechsel der Eiweißgruppen (*Leupold* 1).

Hier muß besonders die auf Grund theoretischer Erwägungen und experimenteller Erfahrung herausgearbeitete Vorstellung von Wichtigkeit werden, daß das Amyloid nicht ein unvollständig abgebautes oder dem Abbau und der Ausscheidung unzugängliches Eiweiß, sondern ein ganz hochmolekulares Protein darstellt, das zwar zuerst in einer Art Vorstufe gelöst vorhanden ist, aber als solches nicht in das Ablagerungsorgan erst hineingebracht, sondern am Ort seiner Entstehung abgelagert wird. Auf Grund eigener Untersuchungen (*Letterer* 1) war ich zu der Vorstellung gekommen, daß in der Ablagerung der amyloiden Substanz ein Präcipitationsvorgang eines Eiweißkörpers vorliegt, der nicht durch die Gefäßwand, die er seiner physikalischen Beschaffenheit nach unter normalen Bedingungen gar nicht zu durchdringen vermag, in der Richtung auf das Gewebe aus dem Blute austritt, sondern umgekehrt schon vor seinem Eintritt in das Blut im Gewebssaft zum Niederschlag kommt.

Aus der nahen chemischen Verwandtschaft der Amyloidsubstanz mit dem Serumglobulin einerseits und aus experimentellen Befunden andererseits hatte ich geschlossen (1925), daß eines der ursächlichen Hauptmomente zur Amyloidentstehung in der Globulinvermehrung zu suchen sei, die als begleitendes Symptom fast allen Grundkrankheiten des Amyloids eigen ist und außerdem zu den Folgeerscheinungen der amyloid-erzeugenden Mittel des Experimentes gehört.

Von hier bis zur Verknüpfung des Amyloidproblems mit Vorgängen der Antikörperbildung war in einer Zeit, in der die Arbeit auf allen Gebieten der Immunologie besonders erfolgreich fortschritt und jeder Krankheitszustand auf eine eventuelle allergische Komponente hin untersucht wurde, kein weiter Schritt mehr. Es ist *Loeschkes* Verdienst, diesen Schritt getan und so den ganzen Fragenkomplex der Klärung ein gutes Stück entgegengebracht zu haben. Ihre Grundlage haben diese Untersuchungen in der Feststellung *Loeschkes* (1), daß arteigene Proteine unter Umständen antigene Eigenschaften annehmen können, eine Tatsache, die man bisher fast durchweg ablehnte oder trotz den von *Centanni* und von *Schütz* schon früher mitgeteilten Beobachtungen für zweifelhaft

hielt (vgl. auch *Letterer* und *Geißendörfer*). Es gelang ihm unter Anwendung geeigneter Organextrakte bei Kaninchen und Meerschweinchen die Bildung von Isopräcipitinen nachzuweisen. Ferner fand er, daß bei dem Vorgang neben einem koagulablen und das Präzipitat bildenden Eiweißkörper ein zweiter, nicht koagulabler entsteht, der im Serum in Lösung bleibt. Eine Tatsache, die übrigens auch schon von *P. Hirsch* und *Köhler* mit dem Interferometer gefunden worden war. Dieser Vorgang, der uns zeigt, daß eine gewisse Aufspaltung von Eiweißkörpern bei der Präcipitation stattfindet, kann unter Umständen noch einmal von Wichtigkeit werden für die Erforschung der feineren chemischen Zusammensetzung des Amyloideiweißkörpers, dessen spezifisches, aber doch so häufig wandelbares färberisches Verhalten man ja einerseits mit dem Alter des Eiweißkörpers (*M. B. Schmidt* 2), andererseits mit der Gegenwart oder Abwesenheit bestimmter Eiweißgruppen (Kohlehydrat, *Schmiedeberg*) oder verschiedenen Oxydationsstufen (*Leupold* 1) in Zusammenhang gebracht hat.

Auch heute noch teilt sich das ganze Problem der Amyloidose in zwei Gruppen, deren eine die Frage nach der chemischen Zusammensetzung des Amyloideiweiß und nach der Bedeutung der ihm eigenen Farbreaktionen umfaßt, während die andere sich mit der Entstehungsgeschichte der Erkrankung in klinischer und experimenteller Hinsicht beschäftigt. Haben sie sich auch oft unterstützend zur Lösung der Gesamtfragen vorangeholfen, so muß man bis jetzt der experimentellen Bearbeitung zuerkennen, den größeren Teil an der Aufklärung des Problems beigetragen zu haben. Denn, wenn wir in der Erkenntnis der chemischen Struktur des Amyloideiweiß über dessen von *Schmiedeberg* schon gezeigte globulinahe Verwandtschaft und die möglichen Zusammenhänge der Farbreaktionen mit den kohlehydrathaltigen Eiweißkörpergruppen noch nicht viel weiter hinausgekommen sind, so hat uns das Experiment eine große Zahl von Mitteln gezeigt, mit denen es möglich ist, Amyloid zu erzeugen und damit die Entstehungsbedingungen noch weiter zu verfolgen. So verschiedenartig diese amyloiderzeugenden Mittel auch sind, lassen sie sich insgesamt auf einen gemeinsamen Nenner bringen; sie alle setzen einen mehr oder weniger starken parenteralen Reiz, der zum Zellzerfall führt, sei dies nun mehr auf dem Wege über eine fluktuierende Leukocytenkurve oder über den Zerfall von Organeiweiß aus Leber, Milz, Muskulatur usw. Dabei bleibt es im Effekt gleichgültig, ob die parenteral reizende Substanz selbst irgend ein Eiweißstoff oder ein anorganisches Kolloid (Schwefel, Selen) ist. Auch die in den letzten Jahren von japanischen Autoren gefundene, amyloiderzeugende Wirkung der Kieselsäure gehört in das gleiche Kapitel.

Murata und *Yoshikawa* fütterten Kaninchen lange Zeit mit Asche von Reisstroh, deren Hauptbestandteil Kieselsäure ist. Zu dem täglichen Futter wurden 10 g Strohasche gegeben und nach einer Fütterungsdauer von mindestens 100 Tagen

bei $\frac{1}{3}$ der Tiere nach vorheriger starker Gewichtsabnahme Amyloid in verschiedenen Organen gefunden. Injektionen von kieselurem Natrium, Verfütterung oder Einspritzung von kolloidaler Kieselsäure hatten im Prinzip den gleichen Erfolg. Mäuse erkrankten nur dann, wenn als Grundfutter polierter Reis (unpolierter hatte bemerkenswerter Weise keinen Erfolg) und Casein zu der Kieselsäuremahlung gegeben wurde. Es ist beachtenswert, daß leichtere Grade der Fütterungsamyloidose in der Leber allein auftraten (13mal bei 50 Tieren), während bei Nutroseinjektion immer die Milz zuerst erkrankte.

Die Versuche erscheinen geeignet, der Kieselsäure eine grundsätzliche Mitwirkung bei der Amyloidentstehung zuzuschreiben, so wie man dies früher für die Schwefelsäure angenommen hat. Was die Schwefelsäure betrifft, so sprechen die Analysen *Heinleins* meines Erachtens viel mehr dafür, daß ein durch Amyloideinlagerung gestörter Gewebstoffwechsel der Organe zur vermehrten Ansammlung von Sulfatschwefel führt als für die Hypothese einer Ausfällung der Amyloidsubstanz durch die Säure; denn ein Fall von Adeno-Ca hatte sogar höhere Schwefelsäurewerte wie die Amyloidfälle *Heinleins*.

Was die Kieselsäure anlangt, so liegen drei Analysen von *Murata* vor, wobei eine Schinkenmilz den enormen Gehalt von 0,59% der Trockensubstanz an Kieselsäure haben soll, gegenüber zwei anderen Werten von 0,009% und 0,007% Schwefelsäure in der Gesamttrockensubstanz. Auf diese einzige Zahl läßt sich aber noch keine Anschauung gründen und man wird weitere Untersuchungen und Vergleichszahlen abwarten müssen, speziell da unsere heutigen Kenntnisse über die Genese des Amyloids in ganz anderer Richtung verlaufen; die Injektionsversuche mit Kieselsäure sind für eine spezifische ursächliche Bedeutung derselben keineswegs beweisend; denn anscheinend kann schon jeder, die Kolloidstabilität des Serums störende Eingriff, die zur Amyloidose führende Eiweißschmelzung in Gang bringen. Das zeigen Versuche, die ich in den letzten Jahren zahlreich ausgeführt habe; es führt nicht allein die Injektion von körpereigenem Eiweiß (wäßrige Extrakte, abzüglich Haut und Magendarmkanal in toto verarbeiteter Mäuse mit einem desinfizierenden Zusatz von 0,2%igem Phenol) zur Amyloidose, sondern diese Phenollösung sogar allein und darüber hinaus ergaben noch reines destilliertes Wasser oder Kochsalzlösung in meinen Versuchen in $\frac{1}{3}$ der Fälle Amyloidose. Verglichen mit früheren Ergebnissen ist es also vollkommen gleichgültig, was man injiziert, wichtig ist nur der entsprechend starke parenterale Reiz.

Wie erklären sich aber die Amyloidfälle bei Kieselsäurefütterung? Meiner Ansicht nach keineswegs anders als die Fütterungsamyloidose bei Käsefütterung und andere bei Haustieren beobachtete Fütterungsamyloidosen (*Morgenstern*, *Bruckmüller*, *Werner*, *Kuczinsky*, *Arndt* (2), *Rabl*). Schon früher hatte ich (*Letterer* 1) in Analogie mit dem Vorkommen von Kuhmilchpräzipitinen im Blut ernährungsgestörter Säuglinge darauf hingewiesen, daß eine einseitige, unphysiologische Ernährung,

wie sie die Käsefütterung darstellt, zu Resorptionsschäden der Darmwand bzw. zur Durchlässigkeit für mangelhaft abgebaute Eiweißstufen führt, die dann parenteral antigene Eigenschaften entfalten. Das gilt ebenso für die später noch zu besprechenden Versuche von *Rabl* mit der „sauren Ernährung“, wie für die Kieselsäureanwendung in den Arbeiten *Muratas* u. a. Seine Kaninchen wurden, abgesehen von dem Kieselsäure- oder Strohaschezusatz zur Nahrung, mit Okara gefüttert, einem Restprodukt aus der Verarbeitung der Sojabohne. Nun ist bekanntlich die Sojabohne, abgesehen von ihrem hohen Ölgehalt, ein sehr eiweißreiches (37,2%) Futtermaterial, das nach Auspressen der Ölbestandteile zurückbleibt. Somit ist es nicht verwunderlich, wenn gerade bei dieser Art Fütterung die Bedingungen für eine Amyloidose besonders gute sind. Dasselbe geht aus *Muratas* Mäuseversuchen hervor. Unpolierter, also auch vitaminhaltiger Reis mit Kieselsäure führt nicht zur Fütterungsamyloidose; polierter Reis mit Kieselsäure und Caseinzusatz hat Erfolg. Im Casein sehen wir den in diesem Falle notwendigen, erhöhten Eiweißgehalt des Futters.

Ich möchte also der Kieselsäure keinerlei generelle ursächliche Bedeutung bei der Amyloidentstehung zuschreiben, höchstens eine begünstigende Wirkung, wenn sich herausstellen sollte, daß ihre Aufnahme und eventuelle Ablagerung in den Organen antikörperbildende Kräfte im Körper herabzusetzen geeignet wäre.

Sehr auffällige Befunde, die in diesem Zusammenhang noch genannt werden müssen, hat *Butt* berichtet. Er injizierte bei Metallvergiftungsstudien Kaninchen Manganchlorid und fand, wenn die Versuchsdauer entsprechend lang gewählt war (über 34 Wochen) Amyloid mit allen färberischen Qualitäten in 7 von 10 Fällen allein in den Nieren; nur in einem Falle war die Milz beteiligt. Das sekretorische Gewebe der Nieren war stets sehr stark degenerativ geschädigt, die Nieren schieden hohe Grade von Eiweiß aus. Es ist keineswegs einfach, das alleinige Erscheinen von Amyloid in der parenchymatös stark geschädigten Niere zu erklären. Zunächst kommt der Manganinjektion die Allgemeinwirkung jedes parenteralen Reizes zu; darüber hinaus schädigt sie aber das Nierengewebe empfindlich. Zu der allen anderen heutigen und auch früheren Anschauungen (*M. B. Schmidt* 1, Amyloid in neugebildetem, entzündlichem Gewebe) gegenüber paradoxen Ansicht, daß Amyloid in einem funktionell geschädigten Organ besser abgelagert wird, wird man sich kaum bekennen können; zudem betrifft der Manganschaden in erster Linie die sekretorischen Epithelien und nicht das Mesenchym. Meiner Meinung nach sind der Niereneiweißabbau und die Tätigkeit der Capillarendothelien die zwei wichtigsten Punkte. Wir müssen später nochmals auf diesen Fall zurückkommen.

Greifen wir also angesichts des augenblicklichen Standes unserer Kenntnis über das Amyloid zu den ganz primitiven beiden *Grundfragen*,

warum und wie entsteht eine *Amyloidose*, zurück, so liegt es auf der Hand, daß die rein chemische Untersuchung des amyloiden Eiweißkörpers uns im Augenblick wohl keinen wesentlichen Fortschritt bringen kann und daß wir, durch die bisherigen Erfolge ermuntert, von Neuem auf den Weg des Experiments verwiesen werden. Die Frage nach dem Warum dürften wir bis auf die kleineren Teilgebiete der Amyloidosen „ohne erkennbare Grundkrankheiten“, des tumorförmigen Amyloids und der sog. atypischen und der Paraamyloidose als in den Grundzügen geklärt ansehen. Anders ist es mit der formalen Genese; in morphologischer Hinsicht verdanken wir, wie gesagt, *M. B. Schmidt* (2) prinzipielle und endgültige Aufklärungen, die auch dadurch nicht beeinträchtigt werden können, daß in letzter Zeit einige amerikanische Autoren (*Grayzel* (1 und 2) und *Jacobi, Smetana* (1), *Larsen*) eine celluläre Genese experimentell erzeugten Amyloids gesehen zu haben angeben. Es ist möglich und auch auf verschiedenen Wegen erklärbar, daß meta-chromatische Bezirke in Zellen oder echtes Amyloid in diesen zu finden sind, für die Morphogenese des Prozesses bleibt dies eine belanglose Einzelercheinung.

In biologischer Hinsicht ist die formale Genese aber ein Bezirk, der sich in der *Frage nach den Grundstoffen des Amyloids* und die *Art und Weise* seiner *Ausfüllung* im Gewebe umreißen läßt.

Abgesehen von der Notwendigkeit einer logischen Verknüpfung der neuen *Loeschkeschen* (2) Anschauungen mit meinen eigenen experimentellen Ergebnissen bedarf vor allem ein Punkt der Erklärung, der bislang immer als unerklärlich oder als technischer Versuchsfehler angesehen wurde: Die Inkonstanz der positiven Resultate bei allen amyloid-erzeugenden Experimenten. Wir werden sehen, daß unter dem neuen Gesichtspunkt der Betrachtung sich alles zu einem verständlichen Ganzen wird zusammenordnen lassen.

Wie so oft, sind auch hier die scheinbaren Fehlergebnisse die Schlüsselstellungen zur Aufklärung der tatsächlichen Verhältnisse und die früher einmal behauptete trügerische Hundertprozentigkeit des Erfolges bei der Nutroseinspritzung (*Kuczinsky*) würde heute sehr schlecht zu den Vorstellungen und Tatsachen über die Amyloidentstehung passen, die wir im folgenden entwickeln wollen. Die Verwandtschaft zwischen Amyloideiweiß auf der einen Seite und die fragwürdige Inkonstanz des amyloiderzeugenden Erfolges aller Mittel des Experimentes hatten mich veranlaßt, die Serumglobuline bei amyloidkranken und gleichbehandelten, aber gesund gebliebenen Mäusen zu untersuchen mit dem Ergebnis, daß hier deutliche Unterschiede zutage kamen; denn, während das gesund bleibende, aber einer amyloiderzeugenden Behandlung unterworfenen Tier einen ziemlich hohen Globulinanstieg im Serum zeigte, blieb dieser bei dem amyloiderkranken Tier aus. Ich war deshalb zu der schon oben erwähnten Vorstellung gekommen, daß der amyloide Eiweißkörper nicht

nur dem Globulin sehr nahe stehen muß, sondern auch im Gewebe am Ort seiner Entstehung zur Ausfällung gelangt, ohne vorher die Gefäßwand passiert zu haben und in das strömende Blut gelangt zu sein.

Achard (2) hat mit seinen Mitarbeitern Amyloidose durch intravenöse Caseininjektion bei Hunden erzeugt und das gleiche Verhalten der Serumglobuline gefunden wie ich in meinen Versuchen.

Da durch frühere Beobachtungen und aus letzter Zeit durch die Arbeiten von *H. J. Arndt* und *Doerken* bekannt war, daß die zur Serumgewinnung verwandten Pferde relativ oft an Amyloid erkrankten, so unternahm ich es, bei der mir durch Vermittlung von Herrn Kollegen *Bieling* durch die I. G. Farbenindustrie, Abteilung Behringwerke Marburg, in großzügiger Weise gebotenen Unterstützung meiner Untersuchungen durch Überlassung von Organstücken und Seren von getöteten Pferden, alte und neue Fragen der Amyloidentstehung auch an diesem Material weiter zu verfolgen¹. Auf diese Weise war es mir möglich, Organstücke (Milz, Leber und Niere) von 94 Serumpferden zu untersuchen. Im großen ganzen decken sich die Ergebnisse der histologischen Untersuchung mit denen *Arndts*. Sie sind aus der folgenden Tabelle zu ersehen.

Tabelle I. Übersicht über 94 Serumpferde.
Davon bei 53 Tieren Amyloid gefunden.

Art der Imm.-Behandlung	Gesamt- zahl	Amyloid		Milz		Leber		Niere	
		+	—	+	—	+	—	+	—
Rotlauf . . .	64	36	28	35	1	16	48	1	63
Tetanus . . .	9	8	1	8	1	8	1	2	7
Diphtherie . .	9	2	7	2	7	0	9	0	9
Coli	3	3	0	3	0	2	1	0	3
Meningokokken	3	2	1	2	1	0	3	0	3
Skorpion . . .	2	0	2	0	2	0	2	0	2
Scharlach . .	1	0	1	0	1	0	1	0	1
Dysenterie . .	1	1	0	0	1	1	0	0	1
Jasaraca . . .	1	1	0	1	0	1	0	1	0

Von 19 Serumpferden (darunter 13 Rotlaufpferden) wurde ferner der Gesamteiweiß- und Reststickstoffgehalt mit der *Kjeldahl*-Methode, sowie das Verhältnis der Globuline und Albumine gravimetrisch bestimmt. Es wäre vielleicht zu erwarten gewesen, daß sich die Verhältniszahlen der Serumeiweißkörper ebenso gestalten würden, wie bei den oben genannten Mäuse- und Hunderversuchen. Diese Erwartung hat sich aber am Pferdeserum nicht erfüllt. Die Globulinzahlen ergaben ein sehr unregelmäßiges Bild und kein gesetzmäßiges Verhalten gegenüber den Befunden von Amyloid in den entsprechenden Organen. Die Gründe

¹ Mein besonderer Dank gilt Herrn Kollegen Dr. *Demnitz* für alle freundlichst erteilten Auskünfte und die liebenswürdige Sorge für die regelmäßige Materialbelieferung.

liegen meines Erachtens in zeitlichen Verschiedenheiten zwischen der Amyloidbildung und der Tötung des Tieres; denn, wenn auch die am längsten im Serumdienst stehenden Pferde häufiger (aber auch nicht vollkommen regelmäßig) an Amyloid erkranken als die mit kurzer Dauer, so steht es bei der Tötung dennoch nicht fest, wann die Amyloidsubstanz abgelagert wurde, die entsprechenden Serumbedingungen haben sich also inzwischen wieder mehr oder weniger verschoben.

Während ich bei dem Abschluß meiner ersten Untersuchungen über die Ablagerung der Globuline jenseits der Gefäßwand und ihre angenommene Umbildung zu Amyloid noch keine durch genügend sichere Tatsachen begründeten Angaben zu machen imstande war, erwog ich aber schon den Gedanken, es könne sich bei der Amyloidose um einen Präcipitationsvorgang im Sinne einer Antigenantikörperreaktion handeln (S. 580), wobei allerdings dem Globulin die Rolle des Antigens zugeordnet war. Versuche von *Raubitschek* hatten schon 1910 zu der Annahme Veranlassung gegeben, daß das Antigen im Blute kreisen müßte.

Meine im Anschluß an diese Arbeiten neu aufgenommenen Versuche mit arteigenen durch Elektroultrafiltration gewonnenen Globulinen, bzw. Euglobulinen, bei Kaninchen Amyloid oder Präcipitationsphänomene im Serum zu erzielen, hatten hinsichtlich der ersten Frage ein völlig negatives und hinsichtlich der zweiten ein nur spärliches, nicht weiter auszuwertendes Ergebnis. Solche Isopräcipitine bei Kaninchen durch Injektion arteigenen Serums hat *Schütze* (2) in seltenen Fällen sich bilden sehen.

Der Schritt, in der Amyloidablagerung eine echte Präcipitatbildung im Sinne einer Antigenantikörperbildung zu erblicken, lag also sowohl von der Einengung des Problems, wie von der oben gestreiften, durch zeitgeistige Strömung bedingten Arbeitsrichtung her gesehen, nahe und *Loeschke* (1) ging hier erfolgreich vor, nachdem es ihm gelungen war, die Bildung von Isoantikörpern sowohl gegen eigenes Organ- wie gegen Leukocyten-eiweiß nachzuweisen. Er sah die Bedingungen, die nun zu einer Präcipitation dieser Isoantikörper im Gewebe führten in den quantitativen Beziehungen von Antigen und Antikörper. Auch mit der von mir schon gebrauchten Methode der Organimplantation gelang es, die Bildung von Isopräcipitinen gegen die implantierten Organe bei Meerschweinchen zu erzeugen, aber ohne dabei Amyloid zu beobachten. Die Injektion geeigneter Extrakte ergab bei Kaninchen das gleiche Resultat. Aber das Amyloid spricht *Loeschke* noch als einen Spezialfall an, insofern er es als ein Leukocytenpräcipitin bezeichnet, das seine Entstehung einer Resorption von körpereigenem Eiter oder dem intravasalen Zerfall von Leukocyten nach parenteraler Gabe irgendwelcher Reizkörper verdankt. So konnte er auch bei Ratten nach Caseininjektion neben Antikörpern gegen Casein noch solche gegen Leukocyten-eiweiß im Serum auffinden; Amyloidbildung war zwar auch hier nicht zu

erreichen gewesen. Die Präcipitatbildung im Gewebe verbindet *Loeschcke*, wie gesagt, mit den gegenseitigen Mengenverhältnissen von Antigen und Antikörper und stellt sich vor, daß bei starkem Überwiegen des Antikörpers derselbe auf dem Wege über die Säfte bis zum Ort der Antigenbildung vordringt, um dort mit demselben in Reaktion tretend, ein Präcipitat zu bilden; überwiegt aber das Antigen im Serum, so gelangt dasselbe nach Absättigung der im Blute kreisenden Antikörper bis an dessen Bildungsstätten und wird dort zum Präcipitat führen, was in erster Linie in Milz, Leber und Lymphknoten der Fall ist. Wir wollen hier zunächst die Frage nicht erörtern, auf welche Weise das im Blute kreisende Antigen als hochmolekulares Eiweiß die Gefäßwand zu durchdringen vermag, um diese Präcipitation im Gewebe hervorzurufen. Den Spezialfall der Ablagerung am Ort der Antikörperbildung und die ausschließliche Beteiligung von Leukocytenantikörpern nimmt *Loeschcke* für die Amyloidose in Anspruch, während er Hyalinablagerungen, wie z. B. im Corpus albicans des Ovarialfollikels, der Mamma, in Gefäßwänden speziell der Aorta bei Arteriosklerose, im Bindegewebswall tuberkulöser Herde usw. als Präcipitationshyalin, entstanden durch Antigenantikörperreaktion, vornehmlich am Ort der Antigenbildung, anspricht.

So förderlich die *Loeschckeschen* Anschauungen in ihrer ursprünglichen Konzeption sind, halte ich ihre Ausdehnung auf alle oben bezeichneten Veränderungen dennoch für zu weitgehend, insbesondere was die Arteriosklerose betrifft. Wir müssen daran festhalten, daß es neben einem zweifellos bestehenden Präcipitationshyalin noch andere Formen der Hyalinbildung gibt, die als reine Stoffwechselstörungen des Bindegewebes, also Degenerationen, eine sicherlich andere Entstehung haben und deren Trennung von der anderen Art der Hyalinbildung noch weiterer Untersuchung bedarf. Wir wollen uns hier nur insoweit mit diesen Fragen befassen, als sie den Fall der Amyloidose betreffen, wofür *Loeschcke* eine besonders hohe Sensibilisierung gegen körpereigenes Leukocyteneiweiß und einen mehr oder weniger plötzlichen, aber starken Überschuß von Antigen im Blute fordert; in diesem Falle soll es dann zur Präcipitation am Ort der Antikörperbildung kommen. Überschaute man das ganze Problem unter diesem Gesichtspunkt, um Bekanntes und Neues in logischer Folge aneinander zu reihen, so ergibt sich neben nicht zu umgehenden neuen Fragen in Vielem erfreuliche Übereinstimmung. *Loeschcke* selbst wies schon darauf hin, daß seine Ansicht mit derjenigen *Domagks* und früherer Forscher einen Berührungspunkt in den Leukocyten fände; die Resorption von Eiter und der von *Domagk* regelmäßig gefundene Leukocytenanstieg und -zerfall bilden hier das Bindeglied. Wenn man ferner bedenkt, daß alle Untersuchungen über Antikörperbildung die Globuline als die hauptsächlichen Antikörperträger erwiesen haben, so läßt sich aus ihrem Verhalten bei der Amyloidose

eine wichtige Schlußfolgerung ziehen; der hohe Globulinanstieg im Serum behandelter, aber nicht erkrankter Tiere würde, da wir doch in diesem Fall Globulinanstieg und Antikörpergehalt des Serums gleichsetzen dürfen, einem Tier entsprechen, das sehr reichlich Antikörper zu bilden imstande ist; das Tier aber mit dem *niederen*, nicht ansteigenden *Globulinspiegel* ist ein *schlechter Antikörperbildner* und *erkrankt* deshalb an *Amyloidose*. Unter diesem Gesichtspunkt gewinnt das Auf und Ab der Globuline (= Antikörper) ein neues und viel einfacheres Ansehen und wir hätten daraus zu schließen, daß Amyloidose nur dann eintritt; wenn der Körper entweder schlechte Antikörperbildung überhaupt oder ein gelegentliches Nachlassen seiner Immunkräfte im Verlaufe des Krankseins zeigt. *Wie würde diese Vorstellung nun zu unserer klinischen Erfahrung und zu den experimentellen Beobachtungen passen?* Ich glaube, in jeder Hinsicht sehr gut; nur müßte man die *Loeschkesche* Ansicht von der hohen Sensibilisierung gegen Leukocyten bei Amyloid für die Mehrzahl der Fälle wenigstens dahin ergänzen, daß der zur Antigenbildung grundsätzlich notwendige Antigenüberschuß viel leichter bei allgemein schlechter Antikörperbildung des Organismus erreicht wird als bei hoher Sensibilisierung, welche immerhin einen großen „Antigenstoß“, nach vorhergegangener Antigenretention, zur Voraussetzung haben müßte. Der Verlauf der Globulinbewegung zeigt aber, daß der andere Fall der schlechten Antikörperbildung überhaupt, und das dann ganz natürliche quantitative Übergewicht der Antigene, der sicherlich gewöhnliche ist. Damit lassen sich auch die klinischen Tatsachen gut in Übereinstimmung bringen. Betrachten wir aber zuerst noch einmal das Experiment, so lehrt es uns, daß der Erfolg einer Amyloidose umso besser erreicht wird, je länger die Tiere einer krankmachenden Behandlung ausgesetzt sind. *R. H. Jaffé* (1) hat Mäuse bis zu 100 Tagen mit täglichen Caseininjektionen behandelt und gefunden, daß nach mehr als 60 Injektionen alle Versuchstiere und nach mehr als 80 Injektionen dieselben mit allen parenchymatösen Organen an Amyloid erkrankten; denn, je länger die krankmachende Ursache anhält, desto sicherer wird der Fall eines Absinkens der antikörperbildenden Kräfte des Körpers einmal erreicht werden, eine Erfahrung, die wir ja auch von den Serumpferden her kennen. Je länger die Tiere im Serumdienst standen, desto häufiger ist bei ihnen die Amyloidose (*Arndt* 3). Dagegen spricht auch nicht die Beobachtung, daß bei Tieren, welche noch ein gut wirksames antikörperreiches Serum lieferten, ebenso Amyloid gefunden wird; denn der Antikörpertiter verläuft ja in einer kurvenmäßigen Auf- und Abwärtsbewegung. Wird man aber erneut Antigen verabreichen, um die Antikörperbildung des Serumspenders wieder in die Höhe zu treiben, so ist besonders leicht in dieser Zeit die Möglichkeit zur Amyloidbildung gegeben. Wir sehen in diesen Dingen aber auch gleicherweise den oben schon angedeuteten Grund, warum bei über so lange Zeit sich

ausdehnenden Vorgängen wie der Serumgewinnung bei Pferden die bei Tötung des Tieres gefundenen Eiweißwerte des Serums nicht immer den bei Mäusen experimentell gefundenen entsprechen können; denn der Serumeiweißwert entspricht dem Wert im Augenblick der Tötung. Das gefundene Amyloid aber, dem wir ja sein Alter bzw. die Zeit seiner Ablagerung nicht ansehen können, kann schon viel längere Zeit vorher entstanden sein. Es bleibt liegen und in der Zwischenzeit können die Serumeiweißkörper sich wieder umstellen. So wird ein Verhalten in dem geforderten Sinne für die dargelegte Ansicht, ein entgegengesetzter Befund nicht absolut gegen dieselbe auszuwerten sein. Der Experimentator befindet sich mit der Maus als Versuchstier in einer wesentlich besseren Situation, insofern als der ganze Versuch auf die vergleichsweise sehr kurze Zeit von zwei bis höchstens vier Wochen beschränkt bleibt, während welcher sich die eingetretenen Serumveränderungen nicht so rasch wieder umstellen können, insbesondere dann nicht, wenn die krankmachende Ursache (Injektion) intensiv genug fortgesetzt wird. Die Persistenz der krankmachenden Ursache wird also früher oder später einmal zu einem Überwiegen der Antigene in den Säften führen und so Gelegenheit zur Amyloidbildung geben, umso sicherer, je länger der Prozeß dauert und die antikörperbildenden Kräfte konsumiert werden.

Es liegt nahe bei dieser Art der Auffassung der Amyloidentstehung an Beziehungen zum reticuloendothelialen System und die ihm zugeschriebenen Funktionen zu denken. Diese, schon von zahlreichen Autoren (*Domagk, Jakob, Arndt, Pagel, R. Jaffé, Smetana* 2) geäußerte Ansicht gewisser genetischer Beziehungen zwischen reticuloendotheliale System und Amyloid würde dann gleichbedeutend sein mit der Erschöpfung seiner antikörperbildenden Kräfte. Es ist wohl zweifellos, daß das reticuloendotheliale System bei der Amyloidose eine mitbestimmende Rolle spielt; denn sie tritt ja besonders in den Organen, in denen auch das reticuloendotheliale System stark vertreten ist auf. Wie weit diese Rolle aber geht, läßt sich trotz aller darauf abzielender Experimente nicht entscheiden; denn man kann höchstens sagen, daß auch die *Amyloidose* eine *Krankheit* des *aktiven Mesenchyms*, aber *nicht* des *reticuloendothelialen Systems* im engeren oder weiteren Sinne ist. Das zeigen schon die Fälle von sog. atypischer Amyloidose, bei denen sich das Amyloid vornehmlich in der Muskulatur (Herz und Extremitäten) ablagert, worauf später noch zurückzukommen sein wird. *Smetana* fand das Amyloid bei Mäusen, die vor der Nutrosebehandlung mit Tusche oder Trypanblau gespeichert waren, immer in der Umgebung der Speicherzellen abgelagert und in 5 von 6 Versuchsreihen soll die Amyloidentstehung bei tuschegespeicherten Tieren gegenüber anderen verzögert gewesen sein. Im Gegensatz dazu berichtet *R. Jaffé* über Versuche von *Desclin*, bei denen sowohl tuschegespeicherte wie normale Mäuse mit Casein gespritzt wurden und die Tuschetiere in 90% an Amyloid

erkrankten, während die Normaltiere nur in 60% Amyloid aufwiesen. Allerdings waren die Mäuse, wie dies meines Erachtens nötig gewesen wäre, nicht zum gleichen Zeitpunkt getötet worden. Denn die Versuche von *R. H. Jaffé* zeigen ja deutlich genug, daß die Länge der Versuchsdauer den Erfolg einer krankmachenden Behandlung wesentlich verbessert. Zudem wurde die Tusche intraperitoneal injiziert, wobei sie nach meinen Erfahrungen überhaupt ausgesprochen schlechte Resorptionsbedingungen infolge Ausflockung der Tuscheteilchen hat. Ich selbst habe Versuche über die Beeinflussung des reticuloendothelialen Systems bei der Amyloidbildung in zweierlei Richtung ausgeführt; einmal mit vorhergehender und gleichzeitiger, der Injektionsbehandlung gleichlaufender Speicherung von Trypanblau oder von Tusche und zweitens mit der Injektion von elektrokolloidalem Kupfer (*Heyden*), dem nach den Arbeiten von *Jancsó* eine elektiv schädigende Wirkung auf das reticuloendotheliale System zukommt (*Letterer* 2, 3). Die Tiere, die durch die teils intravenöse, teils intraperitoneale Trypanblauinjektion (mehrmals 0,5—1,0 ccm 1%iger Lösung) diffus blau gefärbt waren, zeigten keinerlei erhöhte Tendenz zur Erkrankung an Amyloid, aber eine erhöhte Anfälligkeit Infektionen gegenüber. Die Tuschetiere (dreimal 0,2 ccm einer Pelikantuscheverdünnung von 1 : 20) erkrankten ebenfalls nicht häufiger als andere. Und während sonst eine Dosis von 0,2 ccm elektrokolloidalen Kupfers in den meisten Fällen den Tod des Tieres innerhalb 24 Stunden bewirkte, hielten die Tiere dieser Reihe erstaunlich stand und vertrugen neben der Nucleinbehandlung eine Kupferbehandlung von 0,9 ccm in 9 Tagen ohne aber irgendwie vermehrt an Amyloid zu erkranken. Diese Eingriffe am reticuloendothelialen System haben also keinerlei Wirkung auf die experimentelle Amyloidose und bestätigen die oben geäußerte Ansicht, daß wohl gewisse Beziehungen bestehen, über deren Art und Weise man aber keine Aussagen auf Grund von Experimenten machen kann. Daß man aus der Speicherkapazität nicht auf gute oder herabgesetzte Antikörperbildung schließen darf, braucht nicht besonders betont zu werden. Jedenfalls darf die Beobachtung *Smetanas* (2), daß bei eingetretener Amyloidose die Speicherung an den Orten der Amyloidablagerung aussetzt, lediglich als eine lokale Sperrung des Stoffaustausches gedeutet werden. Im übrigen sei in dieser Beziehung noch auf meine Arbeiten über die (negative) Bedeutung der Speicherung für die sonstige Funktion der Reticuloendothelien (*Letterer* 3) und auf die Unbeeinflussbarkeit der Präzipitinbildung durch elektrokolloidales Kupfer verwiesen (*Letterer* 2).

Wie verhält es sich nun bei unseren Versuchstieren mit der Präzipitinbildung überhaupt? Speziell bei der für Amyloidversuche so gut geeigneten Maus, der man eine ganz besondere Neigung, an Amyloid zu erkranken, nicht absprechen kann? Ich glaube, auch diese Verhältnisse sind ein Beweis für meine Ansicht, daß schlechte oder von Natur aus

niedrige Antikörperbildung die Entstehung der Amyloidose begünstigt, wobei Antikörperbildung im Sinne von Präcipitinogenbildung zu verstehen ist.

Das Kaninchen mit seiner, unter unseren Versuchstieren besten, Präcipitinbildung zeigt nur geringe Neigung, an Amyloid zu erkranken, sowohl was die Zahl der Tiere einer Versuchsreihe wie die Ausbreitung des Prozesses in den Organen anlangt. Etwas bessere Resultate haben die schon besprochenen Kieselsäurefütterungen gebracht. Im allgemeinen ist die Amyloidbildung bei Kaninchen, dem besten Präcipitimbildner, aber schlecht. Demgegenüber steht die Maus als besonders gutes „Amyloidtier“ mit einer dem Serologen schon lange bekannten, sehr mäßigen Präcipitinbildung. Während *Doerr* und *Russ* Präcipitinbildung bei der Maus überhaupt nicht erreichen konnten, gelang es *Ritz* durch intravenöse Injektion von verhältnismäßig sehr großen Dosen eine mäßige Präcipitinbildung nachzuweisen. Wir sehen also bei diesen beiden Tieren einen deutlichen Antagonismus zwischen der Fähigkeit, Präzipitin zu bilden und der Möglichkeit, an Amyloid zu erkranken; dabei ist das eine wichtig, daß überhaupt Präcipitine gebildet werden; denn, wenn nicht wenigstens eine gewisse Menge präzipitierender Antikörper vorhanden ist, so kann natürlicher Weise auch kein Amyloid auftreten. Diese letzteren Bedingungen scheinen mir besonders ausgeprägt bei Meerschweinchen vorzuliegen, bei denen eine Amyloiderzeugung überhaupt nicht gelingt und die für Präcipitinbildung ganz ungeeignet sind. Mir selbst gelang die von *Loeschcke* angegebene Erzeugung von Isopräcipitinen gegen Organextrakte bei Meerschweinchen nicht.

Es spielt hier noch ein Moment, die Ernährung, mit, dessen Wichtigkeit für die Amyloidbildung außer allem Zweifel steht, das aber in seiner tatsächlichen Bedeutung noch nicht genügend aufgeklärt ist. „Saure“ Tiere, wie die Maus sind viel mehr zu Amyloid disponiert wie ausgesprochen „alkalische“, von denen das Meerschwein ein typischer Vertreter ist. Schon früher habe ich auf diese Verhältnisse hingewiesen und die neuen, zu Amyloid führenden Versuche von *Rabl* an Mäusen mit saurer Ernährung, wie die Kieselsäurefütterungen *Muratas* an Kaninchen sprechen in dem gleichen Sinne. Auch in vitro begünstigt ja saure Reaktion die Schnelligkeit und Stärke der Präcipitinreaktion, während dieselbe bei alkalischer Reaktion langsamer und weniger ergiebig ist (*Dold*). Dazu kommt ferner, daß gewisse Zusätze zum Futter offenbar amyloidhemmend wirken, während qualitativ schlechtes Futter, insbesondere lipoidarme Ernährung, eine gewisse vermehrte Amyloidbildung begünstigen. Ich habe vergleichende Untersuchungen über den Einfluß der Ernährung auf die Amyloidentstehung an Mäusen der gleichen Rasse angestellt und gesehen, daß Versuchsreihen, die ein hochwertiges Futter (Körnermischfutter mit getrockneten Fischabfällen) bekamen bei gleicher Behandlung (subcutane Injektion von 2%igem Nuclein in

0,25%iger NaOH) innerhalb bestimmter Zeit (15 Tage) nur sehr wenig (10—20%) positive Tiere hatten, während andere Reihen, die schon vor der eigentlichen Behandlung zur Vorbereitung nur mit Weißbrot und Wasser gefüttert waren (15 Tage) und während des Versuches in derselben Weise gehalten wurden, wesentlich höhere Zahlen an amyloidpositiven Tieren aufwiesen. Mangelhafte, besonders an Lipoiden arme Nahrung begünstigt also ganz zweifellos die Amyloidose, genau so wie die Art der Aufzucht der Tiere und das während dieser Zeit gereichte Futter von großer Bedeutung sind. Das ist besonders zu bedenken, wenn man die Versuchsergebnisse beurteilt, die an Mäusen aus verschiedenen Tierfarmen und verschiedenartiger Aufzucht hinsichtlich der Fütterung stammen. Es steht dies auch durchaus im Einklang mit neueren experimentellen Beobachtungen von *R. H. Jaffé* (2) der in eigens darauf eingestellten Untersuchungen fand, daß Cholesterinzusatz zum Futter die Entstehung einer Amyloidose trotz Caseininjektion verhindert. Gleiche Ergebnisse, allerdings unbeabsichtigte, bestehen schon aus viel früheren Versuchen. So berichten *Klinge* und *Wacker*, daß bei länger dauernder Teerung von Mäusen 50—80% der Tiere an Amyloid erkrankten; erhalten die Mäuse aber gleichzeitig eine zusätzliche Cholesterinfettnahrung, so tritt kein oder nur ganz minimales Amyloid auf. Zu denselben Befunden kommt *R. M. Mayer*; auch er untersuchte teergepinselte Krebsmäuse bei verschiedenartiger Fütterung, wobei die cholesteringefütterten Mäuse frei von Amyloid blieben. Einer kurzen Besprechung bedürfen in diesem Zusammenhang noch die Versuche von *Rabl*. Trotz der scheinbar zu den Versuchen von *Klinge* und *Wacker*, *Mayer*, *R. H. Jaffé* im Gegensatz stehenden Resultate hinsichtlich des Cholesterins, die auch *Rabl* in dem Sinne ausdeutet, als ob seine saure Nahrung, verbunden mit Cholesterin, besonders leicht zur Amyloidose führt, ist meines Erachtens eine unverkennbare Schutzwirkung des Cholesterins aus *Rabls* Versuchen zu entnehmen.

Zunächst muß das Cholesterin völlig oder fast wirkungslos bleiben, wenn es, in so relativ reichlicher Menge in Substanz dem Futter beigemischt, ohne gleichzeitige Fett- oder Ölgabe verabreicht wird. Cholesterin ist nur als Ester resorbierbar und die Veresterung kann im Darm nur bei Gegenwart entsprechender Ölmengen stattfinden. Diese fehlen aber bei der gewöhnlichen, von *Rabl* gegebenen sauren und alkalischen fettfreien Futtermischung mit Cholesterin in Substanz, so daß demselben in diesen Versuchsreihen eine Wirkung gar nicht zukommen kann. Demgemäß sinkt auch die Zahl amyloidpositiver Tiere sofort, wenn dem Grundfutter zu dem Cholesterin noch entsprechende Fettmengen zugesetzt werden; es schützt also nicht das Fett (Butter), sondern das Cholesterin wird erst wirksam, um schützen zu können. Wenn auch ein stark amyloidfördernder Einfluß der sauren Nahrung in den Versuchen unverkennbar ist, so sind sie in der Zahl der Einzelserien zu gering und

in den Versuchsbedingungen zu kompliziert, um zu bindenden Schlüssen ein Recht zu geben. Die Tiere haben in größerer Zahl infolge der langdauernden Fütterung mit einer künstlichen Nahrung (Milchpulver usw.) Zeichen einer A-Avitaminose, in deren Gefolge es zu Eiterungen in den Ohren kommt (Hyperkeratosen mit folgender Infektion. Siehe *Domagk und v. Dobeneck*). Es ist deshalb nach unserer vorhergehenden Schilderung nicht verwunderlich, wenn sie leicht Amyloid bekommen. Zudem stört der starke Säurezusatz zum Futter die Darmwand und führt zu den oben schon erläuterten Folgen. Wir hätten die Grundkrankheit also in der Darmschädigung und den Ohreiterungen zu sehen, sie führt, begünstigt durch das vitaminarme Futter und das saure Milieu, zur Amyloidose, deren Eintritt durch die Cholesterinfettfütterung teilweise verhindert wird. Ebenso sind die Versuche von *Watanabe* für die Entscheidung dieser Frage belanglos. An drei Reihen mit insgesamt 16 Tieren sind derartige Stoffwechselfragen nicht zu klären, schon deshalb nicht, weil die vorgenommene Kastration der Mäuse für sich allein cholesterinerhöhend wirkt (*Löwenthal*); ein Zusatz von Cholesterin zum Futter einer Reihe kann also nicht geltend gemacht werden als Cholesterinwirkung.

Als das Resultat dieser Fütterungsversuche wäre es also anzusehen, daß lipoid- und vitaminarmes Futter bei entsprechender Grundkrankheit oder krankmachender Behandlung das Auftreten von Amyloid bei Mäusen wesentlich begünstigt und daß es gelingt, durch gleichzeitigen Cholesterinzusatz zum Futter diese Amyloidose ganz oder teilweise zu verhindern. Fragt man sich zunächst nach den Gründen für dies eigentümliche Verhalten, so ist es klar, daß solch qualitativ schlechte Nahrung die antikörperbildenden Kräfte dezimieren muß, eine Beobachtung, die Klinik und Experiment vielfach bestätigen können. In ganz dem gleichen Sinne sprechen die jüngsten Experimentalergebnisse von *Grayzel* (2) und Mitarbeitern, die mit einer Standardkost es erreichten, daß 100% ihrer Tiere bei Caseininjektion nach 30—35 Tagen an Amyloid erkrankten. Gab man aber diesem Grundfutter entsprechende vitamin- und lipoidhaltige Zusätze in Form von Leberpulver, Vitamin A und B, Lebertran usw., so ließ sich die Entstehung einer Amyloidose bis zu 60—80% verzögern. Interessanter, weil mit einem scharf definierten Stoff arbeitend sind meines Erachtens die Ergebnisse mit Cholesterin, wenn sie auch vorerst nicht eindeutig in ihrer eigentlichen eigentümlichen Schutzwirkung zu beurteilen sind. Über den Einfluß einer Hyper- oder Hypocholesterinämie auf die Präcipitin- oder allgemein auf die Antikörperbildung überhaupt bestehen zu wenig brauchbare Angaben in der Literatur und der Einfluß des Cholesterins in dieser Hinsicht ist zunächst noch widerspruchsvoll und ungeklärt.

Nach *Dold* und *Rhein* übt Cholesterin einen hemmenden Einfluß auf die Anaphylatoxinbildung aus, Injektionen von Lipoidgemischen sollen nach *Achard* und

Flaudin das Auftreten des anaphylaktischen Shocks verhindern (spezifisch?). Während *Koldajeff* keine Beziehungen zwischen Blutcholesterin und der Diphtherieimmunisierung bei Pferden fand, stellt *Marie* zunächst einen Cholesterinanstieg, später einen Abfall des Blutcholesterins fest. Auch soll langdauernde Serumbehandlung zum Absinken des Blutcholesterins auf die Hälfte des Normalwertes ohne Abhängigkeit von der Höhe des Titors führen. Nach *Prigge* besteht ein Parallelismus zwischen Hämolsin- und Cholesteringehalt im Blut bei Kaninchen. Die Untersuchungen von *Leupold* und *Bogendorfer*, sowie von *Beumer* zeigen, daß dem Cholesterin eine bestimmte Schutzwirkung gegenüber dem Diphtherietoxin zukommt, während *Stuber* eine starke Hemmung der Phagocytose nach Cholesterinjektion fand, die durch Lecithin wieder aufzuheben ist. Die Untersuchungen von *Degkwitz* zeitigten das ebenso interessante wie wichtige Ergebnis, daß Cholesterin und Lecithin sich gegenseitig antagonistisch verhalten, aber direkt umgekehrt, je nachdem man die Substanzen verfüttert oder injiziert. Die Verfütterung von Cholesterin führt, das erscheint mir hier wichtig, zu einer erhöhten Alkalireserve des Blutes. *R. H. Jaffé* konnte, wie gesagt, durch tägliche Cholesteringaben die Entstehung einer Amyloidose bei Mäusen wesentlich verzögern und gleichzeitig feststellen, daß die zuerst in der Leber eintretende Speicherung von Neutral- und doppelbrechendem Fett mit Beginn der Amyloidbildung so gut wie völlig schwand. Gleichzeitig trat dann eine zuvor nicht zu beobachtende Verdauungshypercholesterinämie bei den Mäusen ein. Den gleichen amyloidverzögernden Erfolg hatte aber auch die Fütterung mit gepulvertem Ochsenherzfleisch, dessen Gehalt an Cholesterin sehr gering (0,2%), an Lecithin dagegen nicht unbeträchtlich ist (8%). Dies spricht wiederum mehr für eine unspezifische Wirkung der Lipidzusätze. *Achard* und seine Mitarbeiter haben ihre amyloiderkrankten Hunde auch hinsichtlich der Fette im Serum untersucht und gefunden, daß die Gesamtlipide eine Abnahme erfahren, die sich speziell auf die Fettsäuren erstreckt, während die Cholesterine sowohl bei amyloidkrank gewordenen, wie gesund gebliebenen Tieren um 20–25% der Normalwerte ansteigen.

Man kann also aus den vorliegenden Ergebnissen hinsichtlich unserer Frage noch nicht viel ersehen, bevor nicht systematische Untersuchungen weitere Klärung gebracht haben. Bisher ist noch nicht einmal zu sagen, wo das Cholesterin den Angriffspunkt seiner Wirkung hat, am Antigen oder am Antikörper. Beides ist a priori möglich, denn vielleicht hemmt ein hoher Cholesterintiter mit der dem Cholesterin eigenen antilytischen Funktion (s. *Degkwitz*) schon den für die Amyloidbildung notwendigen Zerfall von Organ- und Leukocytenprotein, so daß entsprechende Antigenmengen fehlen oder es werden Präcipitinogen oder Präcipitatbildung irgendwie hemmend beeinflußt. Zur Genüge mag aber hieraus hervorgehen, daß bei allen Fragen der Amyloidentstehung, vornehmlich den experimentellen, schon die natürliche, noch mehr aber eine etwa abgeänderte Ernährungsweise der Versuchstiere als ein wichtiger Faktor für die Beurteilung der gegebenen Verhältnisse und für den Erfolg des Experimentes mit in Rechnung gestellt werden muß.

Das Experiment gibt also sowohl im Hinblick auf das Verhalten der einzelnen Versuchstiere, wie auf den Einfluß einer qualitativ verschlechterten Nahrung genügend Anhaltspunkte für die Annahme, daß bei gleichbleibender Antigenezufuhr, aber absinkender Präcipitinbildung die günstigsten Entstehungsbedingungen für eine Amyloidose vorhanden sind.

Welche Momente vermag nun die Klinik mit ihrer Beobachtung am Menschen zu dieser Ansicht beizusteuern? Zunächst ist auch für den Menschen bekannt, daß er nur zu den weniger guten Präcipitinbildnern gehört und wenn wir auch die für die Amyloidentstehung notwendige Zeit mit mindestens 4 Wochen angegeben finden, so sehen wir es doch in den seltensten Fällen so früh zu einer Amyloidose kommen. Immer erst nach langem chronischem Verlauf, der die gesamten Körperkräfte fortschreitend verbraucht, gehen die Tuberkulosen, die Tumorkachexien, eiternde Knochenprozesse schließlich an einer Amyloidose zugrunde. Das heißt also ebenfalls, daß die Entstehungsbedingungen für die Krankheit erst gegeben sind, wenn der Körper den größten Teil seiner Immunkräfte infolge des über Monate und Jahre hingezogenen Verlaufes einer Krankheit eingebüßt hat. Darauf hat erst *Waldenström* in seinen Beobachtungen über die Entstehung und Rückbildung von Amyloid bei tuberkulösen Knochenkrankungen hingewiesen und er gibt die zur Amyloidentstehung notwendige Zeit, während welcher die Knocheneiterung anhaltend und der Patient „stark heruntergebracht“ sein müsse, mit 1—2 Jahren an und jeder Kliniker wird dies aus seinen Erfahrungen bestätigen und ähnliche Beispiele anführen können. So betrachtet, stellt die Amyloiderkrankung also den Ausgang eines Kampfes zwischen der von natürlichen und Immunantikörpern getragenen Resistenz des Organismus und den ihn schrittweise überschwemmenden antigenen Stoffen körpereigener Zerfallsprodukte dar. Die zweifachen Folgen der jeweiligen Grundkrankheiten, gesehen in der chronischen durch Bakterientoxine bedingten Konsumierung antikörperbildender Kräfte einerseits und in der fortdauernden Einschmelzung antigen wirkender Körpersubstanz andererseits, vereinigen sich hier in einer für den Fortbestand des Lebens verhängnisvoll werdenden Art und Weise. Würde man den anderen Fall eines hochsensibilisierten Zustandes gegen körpereigenes Eiweiß, verbunden mit plötzlich überschießender Antigenausschwemmung als den gewöhnlichen zur Amyloidbildung führenden Weg ansehen, so wäre es meiner Ansicht nach natürliche Folge, daß dann auch einmal noch kräftige und wenig heruntergekommene Individuen Amyloid bekämen. Das ist aber doch so gut wie nie der Fall. Für den Arzt aber geht aus einer solchen Betrachtung als therapeutische Forderung hervor, alles zu tun, um spezifische und unspezifische Resistenz des Organismus so hoch wie möglich zu erhalten, denn im anderen Falle tritt der Mensch in die Gefahrenzone der Amyloidkrankheit ein.

Betrachten wir unter den bislang entwickelten Gesichtspunkten die eingangs gestellte Frage nach dem Grunde für die häufige Inkonzanz der positiven Ergebnisse bei amyloiderzeugenden Experimenten am Versuchstier, so ist nun leicht einzusehen, warum diese zu den ganz gewöhnlichen Erscheinungen solcher Versuche gehören muß; denn es wird bei jeder auch irgendwie gearteten Versuchsreihe nie ein Tier ganz gleich

wie ein anderes reagieren und ganz besonders ist das der Fall bei allen Versuchen, die mit Immunkörperbildung zu tun haben. Hier spielt die individuelle Immunitätslage und Reaktionsbereitschaft eine stets wesentliche Rolle für Verlauf und Ausgang des ganzen Prozesses und alle andere Beobachtung an Mensch und Tier zeigt uns stets die gleiche Erscheinung; so ist es natürlich und jetzt auch verständlich, daß in einer Versuchsreihe im Verlauf einer bestimmten Zeit der Einwirkung der krankmachenden Ursache immer nur ein gewisser Teil der Tiere erkrankt, während der andere noch gesund bleibt und diese Unterschiede sind nicht nur individuell, sondern in weitem Maße auch durch die Rasse der Tiere und die vorhergehende und während der Versuchsdauer gebotene Ernährung bedingt.

Aus diesen Gründen habe ich späterhin immer nur Mäuse aus einer ganz bestimmten Zucht benutzt und auf entsprechende Fütterung besonders geachtet, um möglichst gleichartige Bedingungen einzuhalten. Diese Methode hat nach vielen früheren Mißerfolgen schließlich zu ganz brauchbaren Ergebnissen geführt, wenigstens insofern als in einer Versuchsreihe mit einer gewissen Sicherheit ein bestimmter Prozentsatz amyloidpositiver Tiere zu erwarten war. Nach der Veröffentlichung meiner ersten Untersuchungsergebnisse hatte ich Versuche mit den gleichen Methoden (Casein) wieder aufgenommen, aber aus rein äußeren Gründen Mäuse aus einer anderen Zucht benutzt. Mit diesen war bei einer Versuchszahl von 200 Tieren so gut wie überhaupt kein Amyloid zu bekommen gewesen. Die gleiche Erfahrung konnte ich einige Jahre später noch einmal machen, als ich die von mir gefundene Weise der Amyloiderzeugung durch Injektion von Phenolkochsalzlösung erneut anwandte und zu serologischen Untersuchungen über das Amyloid an der School of Pathology in Oxford (Prof. Dr. *Georges Dreyer*) arbeitete. Der Prozentsatz, der an diesen englischen, der Rasse nach sehr kräftigen und gut im Futter gehaltenen Tieren an Amyloid zu erhalten war, war verschwindend gegenüber meinen Ergebnissen in Deutschland. Auf solche Rassenunterschiede hatte *Lubarsch* früher schon einmal hingewiesen, ohne daß man sich aber bisher den eigentlichen Grund für die Verhältnisse zu erklären vermochte.

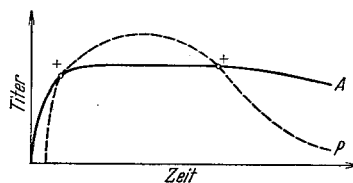
Es erscheint notwendig, noch auf einen weiteren Punkt aufmerksam zu machen. Während ich früher bei meinen Versuchen sog. Spontanamyloidosen nie hatte beobachten können, ist es mir in den letzten Jahren gar nicht so sehr selten vorgekommen, daß Mäuse, die keinerlei Amyloidbehandlung durchgemacht hatten, bei der histologischen Untersuchung amyloidkrank befunden wurden; diese Möglichkeit besteht, entgegen meinen früheren Erfahrungen, also doch und mahnt zur Vorsicht in der Beurteilung nur spärlicher positiver Versuchsergebnisse. Das gleiche berichtet *Wells*. Ich glaube, daß diese Fälle dadurch entstehen, daß Mäuse nicht selten kleine subcutane Abscesse haben, die nach einigen Wochen ohne viel äußere Erscheinungen wieder abheilen und im Gefolge von kleinen Bißwunden, die sie sich gegenseitig beibringen, sich bilden. Bei sehr rauflustigen Reihen sind solche versteckte Abscesse gar nicht so selten und sie können immerhin zu Täuschungen über Versuchsergebnisse Veranlassung geben.

Wenn nun die *Loeschkeschen* Anschauungen über die Entstehungsbedingungen des Amyloids zu recht bestehen, dann müßte es möglich sein, sie auch an Mäusen, bzw. an deren Serum zu bestätigen. Gehen wir von der Grundvorstellung aus, daß die Bildung von präcipitablen Antikörpern ein mesenchymalcellulärer Prozeß ist, wobei neben vielen

anderen Elementen (vielleicht auch den Leukocyten) das Primat den Organen zufällt, in denen das engere reticuloendotheliale System konzentriert liegt, also in erster Linie der Milz, Leber und den Lymphknoten zufällt, so wird der vorwiegende Ort einer Antigenantikörperausfällung in diesen Organen zu suchen sein. Dabei ist es bemerkenswert, daß das Knochenmark mit Regelmäßigkeit bei gewöhnlicher Amyloidose frei bleibt; von vornherein müßte man sie auch hier häufiger beobachten; denn, daß es an der Antikörperbildung sich nicht beteiligt, ist kaum anzunehmen. Zudem sehen wir in den Fällen von multiplen Myelomen, die gleichzeitig mit Amyloid verlaufen, dasselbe vorwiegend im Knochenmark abgelagert. Hierauf wird später noch zurückzukommen sein. Daß die Milz in den allermeisten Fällen zuerst und außerdem auch am stärksten erkrankt, mag seine Erklärung darin finden, daß sie als Blutspeicher mit relativ großen Blutmengen längere Zeit in Kontakt bleibt, die Ausfällungsbedingungen also besonders günstige sind (*M. B. Schmidt 2, Higuchi*). Führt man also das unterschiedliche Verhalten in den Serumglobulinen bei amyloidpositiven und -negativen Tieren auf schwächeren und stärkeren Gehalt an Antikörpern zurück, so muß das positive Amyloidtier ein antikörperreiches und das negative Tier ein antigenreiches Serum besitzen. Wir wollen dabei erst die Frage nach der Abkunft des Antigens, ob nur aus der Quelle der Leukocyten, oder auch aus noch anderem körpereigenem Eiweiß herkommend, ganz außer acht lassen. Es müßte also gelingen, den Vorgang der Präcipitation, der sonst im Organ stattfindet, sozusagen ins Serum zu verlegen, einfach dadurch, daß man das in einem (negativen) Fall antigenreiche, im anderen Fall antikörperreiche Serum zusammenbringt und so den beiden Reaktionsgruppen Gelegenheit gibt, in einen Präcipitationsvorgang einzutreten, wie dies in ähnlicher Weise *Lehmann-Facijs* bei gewissen Formen seiner Tuberkuloseseroreaktion schon einmal angewandt hat. So einfach nun die Idee ist, so schwierig gestaltet sich ihre sinnvolle Ausführung. Denn wir wissen aus anderen ähnlichen Versuchen *in vitro*, daß Antigen und Antikörper nur bei einem bestimmten optimalen Verhältnis in ideale Reaktion treten und daß bei Antigenüberschuß ein schon entstandenes Präcipitat sich wieder lösen oder überhaupt nicht ausfallen kann (spezifische Löslichkeit und spezifische Hemmung). Folglich ist zu erwarten, daß bei einer Mischung zweier solcher Sera nur bei bestimmten Proportionen eine gute Reaktion eintritt. Grundsätzlich ist für die Beurteilung des zu erwartenden Erfolges noch ein weiterer Punkt wichtig; der Augenblick, in dem das Serum von einem Tier entnommen wird, muß in jedem Falle für die Größe seiner Reaktionsfähigkeit von Bedeutung sein. Es ist nicht zu erwarten, daß alle amyloidpositiven Sera gleich gute Resultate bei der Mischung mit amyloidnegativen liefern; bei reichlicher Antigenzufuhr, oder besser gesagt starker endogener Antigenbildung, steigt anfänglich die Kurve der Präcipitinbildung mehr

oder weniger stark an, um späterhin wieder abzusinken. Wenn man sich einmal schematisch die Verhältnisse vorstellt, so gelangt man zu dem folgenden Kurvenbild. Auf die krankmachende Ursache (Injektion) tritt zuerst die sekundäre Antigenbildung (Kurve A) ein. Dieselbe gewinnt einen gewissen Höhepunkt und wird bei immer gleichbleibender Injektion diese Höhe halten oder nur sehr langsam wieder absinken. Als Reaktion auf das vorhandene, aus körpereigenem Eiweiß gebildete Antigen setzt die Präcipitinbildung ein. Sie kann unter der Antigenbildung zurückbleiben, kann gleich hoch werden (gegenseitige humorale Absättigung) oder die Antigenkurve übersteigen. Durchschnittlich können die drei Möglichkeiten in einem Krankheitsverlauf zu verschiedenen Zeiten vorhanden sein (Kurve P). Es kommt also dann theoretisch zweimal im Verlauf der Kurve zum Überwiegen des Antigens über das Präcipitin. Beim ersten Mal werden wir den — wenigen — Fällen begegnen, die innerhalb einer ganz kurzen Zeit von Tagen (oder Minuten?) schon zur Amyloidose führten (*Domagk, Letterer 1*). Die Seltenheit des Amyloids bei dieser Konstellation hängt wohl zweifellos mit dem anfänglich natürlicher Weise raschen

Tabelle 2. Schematische Darstellung der möglichen Überschneidung der Kurven des Antigen- und des Antikörpergehaltes im Serum amyloidkrank gemachter Tiere.



A Antigen, P Präcipitinogen.

Anstieg der Präcipitinkurve zusammen. Beim zweiten Mal kommen wir viel mehr in den Gefahrenbereich des Amyloids. Das Präcipitin sinkt dann mit fortschreitender Konsumierung der antikörperbildenden Kräfte des Körpers *langsam* ab und damit ist für eine längere Zeitspanne die Gelegenheit zur Amyloidpräcipitation gegeben. Unterhalb des Kreuzungspunktes (+) beider Kurven ist also die Möglichkeit zur Amyloidablagerung vorhanden, während wir oberhalb desselben nur negative Tiere haben. Wie weit aber das Tier bei der Serumentnahme und Tötung von diesem kritischen Punkt entfernt war, können wir ihm freilich nicht ansehen, weder, wenn es noch kein, noch, wenn es schon Amyloid hat. Das Amyloid kann bei Mäusen ja immer nur wenige Tage alt sein, aber die Serumveränderungen gehen trotzdem fließend weiter und könnten sich, theoretisch gesehen, auch einmal in umgekehrter Richtung bewegen. Man muß aber daraus den Schluß ziehen, daß die Mischung eines positiven und eines negativen Serums nicht in jedem Falle zu einem gleich guten Resultat der Präcipitation führen kann und muß.

Loeschke hat mit Leukocytenextrakt bei amyloidkranken Menschen eine Präcipitation im Serum gefunden, die sogar eine elektive Jodaffinität des Präcipitates erkennen ließ. Zu denselben Ergebnissen gelangte sein Schüler *Steinert* bei der

Untersuchung von Kranken mit chronisch eiternden Knochenabscessen. Im Sinne unserer Kurve wäre zu erwarten, daß bei amyloidkranken Menschen die Leukocytenextraktreaktion gering, bei anderen, unter gleichen Krankheitsbedingungen lebenden, aber noch amyloidfrei gebliebenen die Reaktion stark sein würde. Die erste Tabelle von *Steinert* zeigt, daß eine starke (++) Reaktion im Serum solcher Menschen zu finden war, die an einem Amyloid mit weniger starker Ausbreitung gestorben waren (2 Fälle), während bei den anderen, nicht so stark reagierenden (+) Seren in 3 von 4 Fällen eine Ausbreitung von Amyloid in mehr als 2 Organen bei der Autopsie zu finden war. Von den übrigen, während des Lebens untersuchten 40 Patienten gaben 10 eine positive Reaktion. Klinische Zeichen für eine Amyloidose scheinen hier nicht vorgelegen zu haben. Unter diesen 10 Fällen sind aber 8, die fieberhafte Temperaturen haben, während alle negativen stets fieberfrei sind. Dieses Verhalten bedarf meines Erachtens mehr der Beobachtung, denn vermutlich wird die Temperatursteigerung auch mit der Resorption von Biter oder Zerfallsprodukten zusammenhängen und eventuell müßte man aus der wechselnden Stärke der Reaktion zusammen mit dem Fieber auf den Verlauf der Erkrankung und die Gefahr der Amyloidose Schlüsse ziehen können, wobei eine sehr starke Reaktion also noch gegen eine Amyloidose zu sprechen hätte.

Meine Ergebnisse haben nun gezeigt, daß die im Anschluß an meine und *Loeschkes* Untersuchungen entwickelten Grundvorstellungen richtig sind, wenn auch Einzelfragen noch verschiedenartig deutbar und vorerst ungelöst bleiben. Die besten Ergebnisse würde ja immer noch die fortlaufende Reihenuntersuchung eines amyloidkrank werdenden Tieres, verbunden mit einer quantitativ meßbaren Trübungsreaktion zeitigen können, ein Ziel, dem wir aber leider aus vielen technischen Gründen noch sehr ferne sind; aber dann müßte es möglich werden, aus dem Verhalten der fortlaufend geprüften Serumreaktion schon *intra vitam* auf eine Amyloidose schließen zu können.

Es soll zunächst über die Resultate am Serum von Mäusen berichtet werden. Da die oben genannten Gründe es notwendig erscheinen ließen, daß die Sera in verschiedenen Verdünnungen geprüft wurden, so war bei der höchstens 0,5 cm betragenden Menge von Mäuseserum die Ausarbeitung einer bestimmten Mikrotechnik für die Untersuchung unumgänglich. Während eines Studienaufenthaltes in England am Pathologischen Institut der Universität Oxford habe ich mich mit diesen Arbeiten vornehmlich befaßt, bei dessen Vorstand Professor *Dreyer* und seinen Assistenten ich stets verständnisvolle Hilfe und vielfache Förderung und Anregung fand, deren ich hier dankbar gedenke.

Die folgende *Technik* hat sich als die beste herausgestellt: Die zu verarbeitenden Mäuse werden tags zuvor auf 12–24 Stunden Hunger gestellt (nicht Durst). Dies ist sehr wichtig, da nur geringe Spuren einer oft auch dann nicht zu vermeidenden Lipämie durch Eigentrübung die ganze Trübungsreaktion unbrauchbar machen; wie viele Stunden die Tiere noch Hunger vertragen wechselt nach der Vorbehandlung. Manche Reihen sind schon sehr empfindlich und gehen rasch zugrunde. Deshalb ist es auch ratsam, die Tiere für die Hungerzeit einzeln zu halten, damit sie nicht von den anderen bei vorzeitigem Tod, wie sehr häufig der Fall, angefressen werden, wodurch in den Seren wieder starke Lipämie eintritt. Am nächsten Tag wird dann dem Tier in einer durch intraperitoneale Injektion von 0,2 cm 20%iger Urethanlösung erzeugten Narkose durch Scherenschnitt der Bauch eröffnet, die Eingeweide

nach links verlagert und mit einer Glasspritze und 16er Rekordnadel die Vena cava inferior zur Entnahme einer möglichst großen Blutmenge punktiert. Die Glasspritze soll sehr lang und dünn sein um zu starken, das Gefäß komprimierenden negativen Druck zu vermeiden (Tuberkulinspritze) und muß vorher mit Paraffinum liquidum reichlich durchgespritzt sein. Das erhaltene Blut 0,6 bis besten Falles 1,0 ccm wird sofort in ein kleines Reagensgläschen von 1 ccm Fassungsvermögen vorsichtig ohne Schaumbildung übertragen. Zur späteren besseren Ablösung des Blutkuchens und zur Vermeidung einer oft leicht eintretenden Hämolyse (Spuren von Hämolyse machen durch Eigentrübung den Versuch ebenfalls unbrauchbar) wird das Blutröhrchen vorher nach der Vorschrift von *Gardner* mit einem Agarfilm überzogen. ($1\frac{1}{2}$ %igen Agar, in steriler Kochsalzlösung gelöst, warm in das Gläschen füllen und dann austropfen lassen.) Die watteverschlossenen Blutröhrchen bleiben etwa 12 Stunden stehen, zuerst bei Zimmertemperatur, dann im Eisschrank, werden dann zentrifugiert und das mit feiner Pasteurpipette abgeheberte Serum (etwa 0,5 ccm) nachzentrifugiert. Die Pasteurpipetten werden aus sterilisiertem, beiderseits watteverschlossenem Glasrohr jeweils vor Gebrauch hergestellt. Für jedes Serum eine neue Pipette. Sämtliche Gebrauchsgegenstände, auch Paraffin, sind vorher trocken bei 200° zu sterilisieren.

Die Verdünnung des Serums erfolgt nach dem Prinzip der *Dreyerschen* Tropfpipette, da ein Abmessen des Serums in der Meßpipette infolge der geringen Mengen viel zu verlustreich wäre. Das Prinzip der *Dreyer*-Pipette besteht darin, daß von einem, von einer Capillare durchbohrten Glasstab als unterem Ende der Pipette, mit senkrecht zur Achse stehendem plangeschliffenem Querschnitt immer gleich große Tropfen abfallen. Nach diesem Prinzip wurde eine Mikropipette mit möglichst minimaler Tropfengröße hergestellt. Es muß zu einem Satz von Verdünnungen immer die gleiche Pipette benutzt und vor erstmaligem Gebrauch die Pipette kontrolliert werden, ob ein oder mehrere Tropfen stets das gleiche Gewicht, etwa 3 Tropfen = 12 mg, haben (Filterpapierblättchen, *Bang*-Waage!). Die Verdünnung der Nativsera erfolgt mit einer etwas größeren *Dreyer*-Pipette. Da die feine Capillare der Mikropipette naturgemäß sehr langsam ansaugt, wird die Pipette an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen und durch Ansaugen gefüllt; um im gewünschten Augenblick unterbrechen zu können, muß die Zuleitung noch ein, durch Lüften einer einfachen Zwickklammer zu öffnendes Seitenventil haben. So ist das Ansaugen ohne Gefahr für das Serum momentan zu unterbrechen. — Das Austropfen verlangt starken Druck, der durch ein aufgesetztes Gummisophon mit Ventil leicht auszuüben ist. Vor Gebrauch einer jeden neuen Verdünnung muß die Pipette gespült und getrocknet werden; diese Prozedur läßt sich einschränken, wenn man bei den stärksten Verdünnungen beginnend zu den weniger verdünnten Seren fortschreitet und immer erst eine Serumart in alle Gläser einfüllt.

Als Reagensgläser werden kleine Spitzgläser aus Jenaer Glas verwandt (Länge 40 mm, lichte Weite 2 mm, Inhalt etwa 0,1 ccm), da anderes Glas bei der Erhitzung zur Sterilisation störendes Alkali abgibt. Der Glasinhalt wird durch Schleudern gut gemischt. Da die Reaktion durch Wärme beschleunigt wird, verbleiben die Gläser bis zur Ablesung nach 4 Stunden im Wasserbad bei 40–42° C. Die Ablesung geschieht vor der Lampe gegen einen matten, schwarzen Hintergrund (s. bei *Dreyer*).

Zur Amyloiderzeugung wurden die Tiere entweder mit Phenol oder durch subcutane Injektion von Nuclein im Laufe von 14 Tagen einer amyloidkrankmachenden Behandlung unterworfen (1–2 täglich 0,5 ccm einer 2%igen Lösung in 0,25%iger NaOH). Die Sera wurden im Verhältnis von 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40 verdünnt und jede Einzelverdünnung mit der ganzen Verdünnungsreihe des anderen Serums gemischt. Mit den entsprechenden Kontrollen, die nur Serum und Kochsalzlösung enthalten, ergibt eine solche Reihe 24 Proben, die in einem Gestell ins Wasserbad bei 42° gebracht werden. Die Gläser sollen nicht bis zum Halse im

Wasser stehen, der Spiegel nur bis zum mittleren Drittel reichen; zur Konstanthaltung der Spiegelhöhe wird die von *Dreyer* angegebene, sehr gut funktionierende Vorrichtung benutzt.

Zu der Mischung der beiden Hauptseren (positiv und negativ) werden als Kontrollen angesetzt: Das positive Serum mit einem zweiten positiven, das negative mit einem zweiten negativen und das positive und negative je einmal mit Normalserum. Man muß die Gesamttropfenzahl des benötigten Serums von vornherein berechnen, um entsprechend sparsam mit den an sich nicht großen Mengen umzugehen. Im allgemeinen reichen aber bei der Verwendung entsprechend kleiner Grundmengen 0,5 ccm Serum aus. In dem einen oder anderen Falle muß einmal auf eine der weniger wichtigen Kontrollen verzichtet werden; die an sich einfach erscheinende Versuchstechnik gestaltet sich im ganzen trotzdem sehr zeitraubend, da ganz abgesehen von der minutiösen Mischtechnik die Beschaffenheit der gewonnenen Sera oft einen großen Teil derselben wegen einer trotz aller Vorkehrungen noch vorhandenen Lipämie oder geringgradiger Hämolyse unbrauchbar werden läßt oder ungenügende Serummengen nicht einen kompletten Versuch durchzuführen gestatten. Solche Sera wurden von vornherein von der Verwendung zurückgehalten. So endet manche Versuchsreihe, zu deren Durchführung durchschnittlich 3 Wochen benötigt waren, schließlich ergebnislos. Im Anfang hatten wir die Sera nur 1:1, 1:2, 1:4 und 1:8 verdünnt angewandt. Das hatte vor allem den Nachteil, daß die Kontrollen wegen zu geringer Serummengen eingeschränkt werden mußten; da stärkere Verdünnungen aber noch ebenfalls brauchbare Resultate und häufig sogar klarere Ablesemöglichkeiten ergaben, so wurden später nur noch diese angewandt. Diese Erfahrung entspricht den 1904 von *Centanni* schon mitgeteilten, von mir aber erst nachträglich entdeckten Befunden, der bei seinen Versuchen mit Autocytopräcipitinen ebenfalls bessere Präcipitation bei stärkerer Verdünnung feststellen konnte. In der Beurteilung der Resultate ist noch zweierlei zu bedenken. Entsprechend der mit jedem Falle wechselnden Antigen- und Antikörperstärke im Serum wird die Zone der positiven Mischproben wechseln, ohne daß man heute schon aus Regelmäßigkeiten und Unregelmäßigkeiten in dieser Hinsicht Schlüsse zu ziehen imstande wäre. Ferner zeigt sich das Mäuseserum an sich nicht sehr geeignet zu Trübungsreaktionen infolge einer, trotz Einhaltung aller schon genannten Kautelen, nicht vermeidbaren Neigung zu spontanen Eigentrübungen. Diese Eigentrübung tritt, wie die Kontrollmischungen zeigen, gar nicht selten in diesen stärker auf als in den Mischungen zweier verschiedener Sera. Es muß dies wohl doch mit einer geringeren Stabilität gewisser Eiweißgruppen im Mäuseserum zusammenhängen. Sicher läßt sich zeigen, daß der Grad der Verdünnung des Serums keine Rolle spielt, denn der Zusatz eines Schutzkolloids (0,8%ige sterile, klare Gelatine) hilft hier nicht. Bakterielle Infektion der Mischung konnte ausgeschlossen werden. Auch hier werden die Befunde von *Centanni* wieder wertvoll; er sah, daß in Seren von Tieren, die Autocytopräcipitine enthielten, entgegen dem Normalserum bei Verdünnung mit Kochsalzlösung Trübungen eintreten. Diese Verhältnisse erschweren die Beurteilung des Trübungserfolges zuweilen und machen es notwendig, denselben nicht absolut nach einer Trübung überhaupt, sondern relativ nach dem Grade derselben zu beurteilen, ein Verfahren, das sich für die meisten Fälle als ebenso zuverlässig wie brauchbar erwiesen hat. — Es bedeutet also die Einzeichnung eines Pluszeichens in den Skalen der Kontrollmischung (0) nur, daß eine Trübung des Serums (gegen Kochsalzlösung) nachzuweisen ist. Zeigt die Mischung des entsprechenden Stabes ebenfalls ein Pluszeichen, so besagt dies, daß die dort aufgetretene Trübung stärker war als die der Kontrolle, während das Minuszeichen entweder gar keine oder eine schwächere Trübung als die Kontrolle angibt. Es wurden daher immer 3 Röhrchen bei der Ablesung miteinander verglichen. Links die Kontrolle der senkrecht laufenden, rechts die der waagrechten Reihe, in der Mitte die eigentliche Mischprobe. Positiv

ist dieselbe nur dann, wenn sie deutlich stärker getrübt hat als die beiden anderen Proben. Die Ablesung erfolgt erstmals nach 4 Stunden Aufenthalt in einem Wasserbad von 42°, zum zweiten Mal nach 16 Stunden. Im allgemeinen gibt die Ablesung nach 4 Stunden die klareren Resultate.

Serie I.

Die Ergebnisse dieser Reihe gründen sich auf etwa 30 Serien solcher Kreuzungsversuche, die im Verlaufe noch anderer serologischer Reaktionen ausgeführt wurden. Von diesen 30 Serien haben 19 ein brauchbares, klares Resultat ergeben, während die anderen unklare oder negative Ergebnisse brachten. Es ist dies auf die oben schon erwähnten Verhältnisse zurückzuführen, daß die Antikörper- und Antigenkonzentrationen einer ständigen Schwankung unterworfen sind und die histologische Untersuchung der Organe auf Amyloid nur immer einen relativen Schluß auf den jeweiligen Titer, wenn man so sagen soll, zuläßt. Von dem Gedanken ausgehend, daß größere Unterschiede im Zustand der Sera auch deutlichere Resultate bringen müßten, habe ich öfter die Tiere, welche negativ bleiben sollten, kürzere Zeit und mit weniger Injektionen behandelt gegenüber denjenigen, die positiv werden sollten und durch längere Zeit häufige Injektionen erhalten hatten. Die Resultate waren eher schlechter als besser und machen den größeren Teil der etwa im ganzen $\frac{1}{3}$ betragenden Versager aus. Man muß eben bedenken, daß auch die Antigenbildung in diesem Falle ein sekundärer Prozeß ist, der seine Zeit zu entsprechend starker Entwicklung braucht.

a) Zwei Tiere einer Phenolreihe, behandelt mit Phenolkochsalzlösung vom 17. 6.—30. 6. 31 und zwar

17. 6. 1,0 ccm intravenös	23. 6. 1,5 ccm intraperitoneal
20. 6. 1,0 ccm intravenös	25. 6. 2,0 ccm intraperitoneal

zugleich quantitativ unzureichende Nahrung; von 6 Tieren erkrankten zwei an Amyloid; eines davon am 26. 6. Spontan gestorben; sämtliche anderen am 30. 6. getötet. Serum 20 (—) und Serum 23 (+) wird gemischt, ergibt nach 16 Stunden bei 38° im Wasserbad folgende Trübungsskala (Tabelle 3a). Die Mischung von 2 Teilen negativem mit 1 Teil positivem Serum scheint die besten (++) Resultate zu geben.

b) 5 Tiere, dreimal im Abstand von 2 Tagen intravenös Phenolkochsalzlösung (0,5—1,0 ccm), insgesamt 14 Tage im Versuch. Ein Tier hat Amyloid. Starke Trübungsreaktion bei Kreuzung des positiven mit einem negativen Serum.

2 negative Tiere aus der gleichen Reihe ergeben ein fast negatives Resultat gegenüber der vorhergehenden Kreuzung. Abgelesen nach 16 Stunden Wasserbadaufenthalt, 38°.

c) 2%ige Nucleinlösung innerhalb 17 Tagen 10mal zu 0,5 ccm subcutan injiziert. Ein ganz schwach positiv amyloides Tier gekreuzt mit einem stärker positiven. Während nun die beiden Sera in der Kreuzung mit Normalserum sich ganz negativ verhalten, ergeben sie untereinander ziemlich viel positive Trübung. Das sehr schwach positive Tier hat noch relativ viel reagierende Antikörper im Serum. An diesem Beispiel sieht man, daß der positive Amyloidbefund also nur bedingt anwendbar ist; vergleiche die Ausführungen zu der oben gegebenen Kurve (S. 53).

d) Zu Nr. 8 (—) und Nr. 9 (—): In 38 Tagen 9 Injektionen 2%iges Nuclein, je 0,5 ccm subcutan.

Tabelle 3a—c. Trübungsreaktion bei Mischung amyloidpositiver und amyloidnegativer Sera von Mäusen.

Tabelle 3a.

	1:	Maus 23 —				
		1	2	4	8	0
Maus 20	+	8	+	+	?	—
	+	4	+	++	?	—
	+	2	++	+	+	—
	+	1	+	+	?	—
	+	0	—	—	—	—
	+	0	—	—	—	—

Tabelle 3c.

	1:	Maus 5 +				
		5	10	20	40	0
Maus 6 (+)	+	40	+	+	+	—
	+	20	?	?	—	+
	+	10	+	?	—	—
	+	5	+	+	+	—
	+	0	—	+	—	—
	+	0	—	+	—	—

Tabelle 3b.

	1:	Maus 4 —				
		1	2	4	8	0
Maus 3	+	8	++	+	+	—
	+	4	++	+	++	—
	+	2	++	+	?	—
	+	1	++	+	?	—
	+	0	—	—	—	—
	+	0	—	—	—	—

Normalmaus

	1:	Normalmaus				
		5	10	20	40	0
Maus 5	+	40	—	—	—	(+)
	+	20	—	—	—	(+)
	+	10	—	—	(+)	—
	+	5	—	—	—	(+)
	+	0	(+)	(+)	+	+
	+	0	(+)	(+)	+	+

Maus 2 —

	1:	Maus 2 —				
		1	2	4	8	0
Maus 1	+	8	?	—	—	(+)
	+	4	—	—	—	—
	+	2	+	?	(+)	—
	+	1	—	?	+	—
	+	0	—	—	+	—
	+	0	—	—	—	—

Normalmaus

	1:	Normalmaus				
		5	10	20	40	0
Maus 6 (+)	+	40	—	—	—	—
	+	20	—	—	—	+
	+	10	—	—	—	+
	+	5	—	—	—	+
	+	0	+	—	—	—
	+	0	+	—	—	—

Tabelle 3d. Trübungsreaktion bei Mischung amyloidpositiver, amyloidnegativer und normaler Mäusesera.

	1:	Maus 8 —				
		5	10	20	40	0
Maus 7	+	40	+	—	+	(+)
	+	20	(+)	+	?	?
	+	10	+	++	+	(+)
	+	5	+	(+)	+	(+)
	+	0	+	+	++	(+)
	+	0	+	+	(+)	—

Normalmaus

	1:	Normalmaus				
		5	10	20	40	0
Maus 7	+	40	+	—	—	—
	+	20	—	?	—	(+)
	+	10	—	?	—	(+)
	+	5	—	+	—	(+)
	+	0	+	—	+	+
	+	0	+	+	+	+

Maus 10 (+)

	1:	Maus 10 (+)				
		5	10	20	40	0
Maus 7	+	40	+	—	+	(+)
	+	20	?	—	—	(+)
	+	10	—	—	(+)	(+)
	+	5	—	—	—	(+)
	+	0	+	+	+	—
	+	0	+	+	+	—

Normalmaus

	1:	Normalmaus				
		5	10	20	40	0
Maus 4	+	40	—	—	+	+
	+	20	—	—	—	+
	+	10	—	—	—	+
	+	5	—	—	+	+
	+	0	+	+	+	+
	+	0	+	+	+	+

Maus 9 —

	1:	Maus 9 —				
		5	10	20	40	0
Maus 4	+	40	—	—	+	+
	+	20	—	—	—	+
	+	10	—	+	—	—
	+	5	+	—	+	(+)
	+	0	+	+	+	—
	+	0	+	+	+	—

Zu Nr. 7 (++) und Nr. 10 (+): In 14 Tagen 15 Injektionen Nuclein (2%ig, 0,5 ccm subcutan).

Die Kreuzung des positiven mit dem negativen Serum ergibt wiederum die stärkste Trübung.

Serie II. Versuche mit Seren von Serumpferden, die teils amyloidkrank, teils gesund geblieben waren.

In den folgenden Versuchen kommt der anfänglich erwähnte Gedanke zur Ausführung, Sera von amyloiderkrankten und gesundgebliebenen Immunserumpferden in der gleichen Weise zu kreuzen wie eben im

Tabelle 4. Trübungsreaktion bei Mischung der Sera amyloider und nicht amyloider Serumpferde.

		2314 —							2314 —						
		1:	5	10	20	40	0			1:	5	10	20	40	0
1980 +	40	+	+	(+)	?	?	2459 —	40	?	?	—	—	—	—	—
	20	+	+	(+)	?	?		20	—	—	—	—	—	—	(+)
	10	+	+	+	+	?		10	+	(+)	—	—	—	—	+
	5	++	++	+	(+)	—		5	—	—	—	—	—	—	+
	0	+	(+)	?	—	—		0	—	—	—	—	—	—	—
2060 +															
1980 +	40	—	—	—	—	(+)	2459 —	40	—	—	—	—	—	(+)	(+)
	20	(+)	+	—	(+)	—		20	—	(+)	?	—	—	(+)	(+)
	10	+	—	—	—	(+)		10	+	+	+	(+)	—	(+)	(+)
	5	+	—	+	—	+		5	+	+	+	+	—	?	?
	0	+	?	—	—	—		0	(+)	—	—	—	—	—	—
2314 —															
Normalpferd	40	—	—	—	?	(+)	Normalpferd	40	—	—	—	—	—	(+)	(+)
	20	—	—	—	?	—		20	—	—	—	—	—	(+)	(+)
	10	—	—	—	(+)	(+)		10	—	?	?	—	—	?	?
	5	—	—	—	(+)	—		5	—	—	?	—	—	—	+
	0	(+)	—	—	(+)	—		0	(+)	(+)	—	—	—	—	—
Normalpferd															
2060 +	40	—	—	—	?	?	2459 —	40	?	—	—	—	—	(+)	(+)
	20	—	—	—	?	?		20	+	—	—	—	—	(+)	(+)
	10	(+)	—	—	—	(+)		10	—	?	?	—	—	(+)	(+)
	5	+	+	—	—	(+)		5	—	—	—	—	—	—	+
	0	—	—	—	—	—		0	(+)	(+)	—	—	—	—	—

Versuch mit Mäuseserum. Wenn auch zweifellos gleichsinnige Ergebnisse in dieser Reihe erzielt werden konnten, so sind dieselben lange nicht so konstant und zahlreich wie in den Mäuseversuchen, wofür die Gründe im ersten Teil schon hinreichend erläutert wurden. Gekreuzt wurde in 20 Versuchen, von denen 10 ein deutliches positives Resultat gaben, während die übrigen unklar oder negativ verliefen. Die zur Verfügung stehenden Mengen gestatteten auch die Verwendung größerer Mischproben, zu denen diesmal die Originalgröße der *Dreyerschen* Tropfpipette und Uhlenhutröhrchen von 1 ccm Inhalt gebraucht wurden. Auch hier tritt die gleiche Erscheinung auf, daß die Kontrollen spontane Trübungen bekommen, immerhin sind die Mischproben gegenüber den Kontrollen deutlich stärker getrübt. Länger lagernde Sera haben sich auch als weniger wirksam erwiesen als frische, doch war die Lagerung

nicht immer zu umgehen, da nicht stets positive und negative Sera der gleichen Immunisierungsart zur gleichen Zeit vorhanden waren und grundsätzlich nur gleichartige (Rotlauf, Tetanus, Diphtherie) Sera zur Verwendung kamen.

Beispielsweise sei einer der Versuche angegeben:

Serum 2314 (Marburg)	Rotlauf amyloidnegativ gekreuzt mit
„ 1980 „ „	amyloidpositiv, in Milz +++ , in Leber ++
„ 2459 „ „	amyloidnegativ gekreuzt mit
„ 2060 „ „	amyloidpositiv, in Milz ++ , in Leber ++.

Als Kontrollen wurden gekreuzt 2314 (—) mit 2459 (—) und 1980 (+) mit 2060 (+), ferner die beiden positiven Sera und die beiden negativen je einmal mit Normalserum.

Zusammenfassung zu Serie I und II.

Die Mischversuche mit Seren amyloider und nicht amyloider Tiere ergeben bei Mäusen und Pferden ein gleichsinniges Resultat, das die anfängliche Annahme, daß der bei amyloidnegativen Seren vorhandene präcipitierende Antikörper mit dem im amyloidpositiven Serum überschüssigen Antigen in Reaktion treten mußte, bestätigt und ergibt bei dieser Versuchsanordnung gegenüber den Vergleichsseren eine deutlich verstärkte oder allein auftretende Trübungsreaktion.

Die weitere Untersuchung galt nun der Frage nach der Art dieses reagierenden Antigens, welches die Bildung präcipitierender Antikörper hervorrief. Ist dasselbe ohne Frage bei den Fällen menschlicher Amyloidose zu allermeist in dem resorbierten Eiter aus dem chronischen Krankheitsherd zu suchen, so muß man von vornherein auch die Möglichkeit offen halten, daß noch anderes körpereigenes Eiweiß in den Antigenantikörperkomplex eintreten und so an der Amyloidbildung teilnehmen kann.

Loeschke sieht im Leukocyten-eiweiß die einzige Quelle für die Amyloidbildung. Nach seinen Angaben bilden nutroseggespritzte Ratten Antikörper sowohl gegen Nutrose wie auch gegen Leukocyten-eiweiß und in die Bauchhöhle implantierte Organe gaben bei Meerschweinchen ebenfalls Anlaß zur Bildung von spezifischen Antikörpern gegen das Eiweiß des implantierten Organes wie auch gegen Leukocyten-eiweiß. Es ist wohl besonders nach der von *Loeschke* beobachteten Jodaffinität der Leukocyten-eiweißpräcipitate in amyloidpositiven Seren nicht abzulehnen, daß dem zerfallenden Leukocyten-eiweiß eine wichtige Rolle bei der Amyloidentstehung zukommt. Ob sie aber spezifisch ist, d. h. also nur die Leukocyten-eiweißpräcipitate Amyloid ergeben, oder auch andere körpereigene Eiweißarten den gleichen Vorgang veranlassen können, halte ich noch nicht für entschieden, ja auch nicht für wahrscheinlich.

R. H. Jaffe (1), der eine eingehendere Schilderung des ganzen Krankheitsverlaufes bei caseingespritzten Mäusen bis zur Amyloidose gibt, wobei Temperatur, Gewichtskurve, Erythrocyten regelmäßige Änderungen erkennen lassen, fand auch, daß die neutrophilen Leukocyten während der ersten Wochen einen Anstieg bis zu 20000 zeigten, der aber unabhängig vom Vorhandensein von Amyloid bleibt. Er schreibt der Einschmelzung von Organeiweiß die größere Bedeutung zu.

Ich selbst konnte mich in früheren Versuchen auch nicht davon überzeugen, daß ein besonderer Leukocytenanstieg und -abfall bei

caseingespritzten Mäusen eintritt; allerdings lag das mehr an technischen Gründen, denn die Schwankungen der Leukocytenzahlen sind, auch bei annähernd gleichen Bedingungen der Haltung und Entnahme am Einzeltier und bei verschiedenen Individuen so groß, daß man keine Schlüsse ziehen kann; die erhaltenen Werte schwanken um das 10fache (4—40000).

Die folgenden Versuche beschäftigen sich also mit einem Vergleich zwischen Reaktionen auf Leukocyten- und Organextrakte, um die noch fragliche führende Rolle der Leukocyten bei der Antigenbildung im Amyloidprozeß fernerhin zu klären. Im Verlauf dieser Versuche wurden außer der Wirkung von Leukocytenextrakt noch die aus Leber, Milz, Muskulatur, der gesamten Maus und aus den Nekrosen an den Injektionsstellen in ihrem Verhalten geprüft. Es war zunächst etwas schwierig, in den Besitz genügender Mengen von Mäuseleukocyten zur Bereitung des Extraktes zu kommen.

Die Aleuronatmethode versagte bei der Maus völlig. Die für den Menschen pathogenen Eitererreger bleiben bei der Maus erfolglos. Da man aber beobachten kann, daß die im Gefolge von Beißereien gesetzten geringfügigen Hautwunden sehr häufig zu kleinen Abscessen unter der Haut führen, die in den allermeisten Fällen unbemerkt bleiben, so versuchte ich mit einigem Erfolg die Injektion von Kulturen der Maulflora von Mäusen (Biß in einen Wattetupfer und Ausstrich). Solche, wiederum ziemlich toxische Injektionen geben nach 8 Tagen brauchbare, aber nicht sehr eiterreiche, diffuse Abscesse. Und es findet sich in solchem Eiter auch immer noch ziemlich viel eingeschmolzenes Gewebe, so daß man mit einem nicht sehr reinen Antigen arbeitet. Deshalb wurde noch eine weitere Methode gewählt, die zu sehr reinen Leukocyten führte: Abgetötete Pneumokokken wurden in die Bauchhöhle von Mäusen injiziert. Dazu wurden entweder gut wachsende Pneumokokken auf Agarplatten gezüchtet und pro Maus die bei 60° abgetötete Abschwemmung einer Platte in 2 ccm Kochsalzlösung verbraucht oder — um die Dosierung noch genauer zu haben — die Kokken in Bouillonkultur gezüchtet, scharf abzentrifugiert, gewaschen und abgetötet und frisch aufgeschwemmt. 1 ccm dieser Aufschwemmung enthielt 1 Milliarde, die injizierte Menge insgesamt 2 Milliarden Keime. Nach solcher Injektion setzt eine lebhaftere Emigration von Leukocyten in die Bauchhöhle ein, die mit einer Pasteurpipette durch Anstich der vom Fell befreiten, aber uneröffneten Bauchhöhle nach 16—18 Stunden entnommen wird. Zur besseren Spülung der Bauchhöhle werden 15 Min. vor der Entnahme 2 ccm Kochsalzlösung injiziert, der zur Gerinnungsverhütung des sehr fibrinreichen Exsudates 0,3 ccm 5%ige Natriumcitratlösung zugesetzt sind. Damit erhält man eine ideale Aufschwemmung sehr reichlicher Leukocyten, die leicht zentrifugiert und durch Waschen gereinigt werden kann. Durch Blut verunreinigte Entnahmen werden getrennt behandelt und zur Entfernung des Hämoglobins mit 2—3 Tropfen einer 1%igen Saponinlösung versetzt, scharf zentrifugiert und sofort erneut gewaschen. Der Blutfarbstoff bleibt dann in Lösung. Auf diese Weise lassen sich leicht sehr reine Leukocyten gewinnen (Kontrolle im Abstrich), die dann zu Extrakt verarbeitet werden können. Er ist, auf Ampullen gefüllt, beliebig lange haltbar. Zu seiner Herstellung werden aber 20—25 Mäuse mindestens benötigt¹.

¹ Herrn Prof. Dr. *Loeschcke* bin ich für liebenswürdige Überlassung der Vorschrift zur Bereitung der Extrakte aus Leukocyten und Organen sehr zu Dank verpflichtet.

Untersucht man nun Sera von amyloidpositiven und -negativen Tieren mit Leukocytenextrakt, dann kommt man beispielsweise zu folgenden Ergebnissen:

Serie III, 1. Leukocytenextrakt.

Reihe a zeigt das überraschende Ergebnis, daß die amyloide Maus nicht anders reagiert als eine normale. Das kommt nicht so selten vor und kann im Vergleich mit den später erhobenen Befunden nur dahin gedeutet werden, daß im Amyloidfalle die Antikörperbildung eben schon stark reduziert ist. Das Auftreten geringer positiver Reaktionen bei Normalmäusen wird dagegen verständlich, wenn man weiß, daß die Tiere häufig kleine, ganz versteckte subcutane Abscesse nach Bißwunden haben.

In der Reihe b wurden je ein positives, ein negatives und ein Normalserum miteinander verglichen.

Tabelle 5a. Trübungsreaktion der Sera amyloider und nicht amyloider Mäuse mit Leukocytenextrakt.

	1:	Leukocytenextrakt						1:	Leukocytenextrakt				
		1	5	10	100	0			1	5	10	100	0
Maus 23	8	—	—	—	—	—	Normalmaus	8	—
	4	—	—	—	—	—		4	+	—	—	—	—
	2	+	—	—	—	—		2	+	?	—	—	—
	1	+	+	—	—	—		1	+	—	—	—	—
	0	—	—	—	—	—		0	—	—	—	—	—

Tabelle 5b. Trübungsreaktion der Sera einer amyloidpositiven, -negativen und normalen Maus, mit Leukocytenextrakt gemischt.

Mit Leukocytenextrakt						Kontrolle mit NaCl					
1:	5	10	20	40	0	1:	5	10	20	40	0
Norm.	+	(+)	—	—	?	Norm.	+	?	?	?	—
2 —	++	+	+	+	(+)	2 —	(+)	—	—	—	—
4 +	(+)	?	—	—	—	4 +	+	(+)	—	?	—

Serie III, 2. Leberextrakt.

In der Folge wird aus äußeren Gründen auf die Wiedergabe von Einzelbeispielen verzichtet und nur noch der Erfolg der Versuche angegeben.

Brauchbare Versuche 5. Von diesen reagieren 4mal die negativen Sera bei Zugabe von Leberextrakt stärker als die positiven. Die Reaktionen sind mit Leberextrakt besonders stark, was vielleicht auf die stärker vorhandenen Lipide aus den Fettstoffen der Zelle zurückgeführt werden kann.

Serie III, 3. Milzextrakt.

Brauchbare Versuche 7; von diesen reagieren 2mal die negativen Sera stärker als die positiven, 4 Versuche bleiben zweifelhaft, einer sicher negativ.

Serie III, 4. Muskelextrakt.

Zwei brauchbare positive Versuche.

Serie III, 5. Gesamtmausextrakt.

Zahl der brauchbaren Versuche mit trübungsfreien Kontrollen 8. Von diesen reagieren 5 mit den negativen Tieren stärker als mit den positiven. 3 reagieren mit beiden gleichartig oder stärker mit den positiven.

Serie III, 6. Nekroseextrakt.

Die Behandlung zur Amyloiderzeugung hatte bei diesen Versuchen in der Injektion von 2%igem Nuclein in 0,25%iger NaOH bestanden. Auf Grund von Vergleichsversuchen habe ich den Eindruck, daß in erster Linie der starke nekrotische, durch die Natronlauge bedingte Gewebszerfall für das amyloiderzeugende Agens anzusehen ist. Denn Natronlaugeinjektion allein wirkt ebenfalls amyloiderzeugend; dabei entstehen aber gegenüber den Versuchen mit Nucleinzusatz so starke und ausgedehnte Hautnekrosen, daß die Tiere breite Strecken der Rückenhaut verlieren können. Dieser übermäßigen Nekrotisierung wirkt der Nucleinzusatz entgegen. Es lag deshalb nahe, auch einmal das nekrotische Gewebe, das aus zerfallener Haut, Muskulatur und Leukocyten bestand, auf seine Antigenwirkung zu untersuchen. Der in gleicher Weise hergestellte Nekroseextrakt hatte auf die Mäusesera eine gleichsinnige Wirkung wie der Leukocyten- und die anderen Organextrakte. Mit ihm wurden 18 Versuche angestellt. 13 davon sind im Sinne des beigefügten Beispiels positiv verlaufen. Die übrigen waren unklar oder negativ. Der Prozentsatz des positiven Ausfalles ist hier also wesentlich höher.

Tabelle 6. Trübungsreaktion der Sera positiver und negativer Amyloidmäuse mit Nekroseextrakt gemischt.

Mit Nekroseextrakt						Kontrolle mit NaCl					
1 :	5	10	20	40	0	1 :	5	10	20	40	0
Norm.	?	—	—	—	+	Norm.	—	?	—	—	—
3 —	+	++	+	+	+	3 —	?	?	—	—	—
4 +	—	—	—	—	+	4 +	—	—	—	—	—

Serie IV.

Die nun folgende Serie stellt eine Ergänzung zu Serie III dar, insofern als mit der Methode der Organimplantation geprüft werden sollte, wie die Antikörperbildung gegen das implantierte Organstück zeitlich vor sich ging und wie sie sich, verglichen gegen die histologisch nachweisbaren Umwandlungen, verhielt.

22 Mäusen wurden in die Bauchhöhle Organstückchen von Mäuseleber, -milz und -muskulatur eingelegt und die Tiere eine, 2 und 4 Wochen nach der Operation getötet. Die Sera wurden mit den gleichen, in den vorhergehenden Versuchen schon angewandten Extrakten, geprüft.

Seit meinen ersten Erfolgen mit dieser Methode Amyloid zu erzeugen, sind die Versuche mehrfach nachgeprüft und bestätigt worden. Unter anderem haben die Versuche von Cruz interessante Ergebnisse gezeigt, insofern als die Amyloid-erzeugung mit artgleichen Organen und von diesen wieder mit den parenchymreichen (Leber) am besten gelangen. Die nächstbesten Erfolge ergaben Überpflanzungen von Rattenorganen und dann, aber mit weitem Abstand, Kaninchenorgane. Nach der Einpflanzung von Schweine-, Rinder- und Pferdeleber entstand kein Amyloid, sondern die Tiere gingen bald nach der Operation ein. Die Resorption

von arteigenem Eiweiß wirkt also, wie man sieht, wesentlich weniger toxisch, aber gut amyloiderzeugend. Von den Farbenreaktionen war die Jod- und Jodschwefelsäurereaktion stets negativ, Kongorot und Methylviolett bei den mit Mäuseorganen versehenen Tieren stets positiv, während bei den 2 Kaninchenlebertieren die Kongorotfärbung als einzige positiv war. Auf diese Unterschiede wird man in weiteren Versuchen noch genauer zu achten haben.

Tabelle 7. Trübungsreaktion im Serum mit Extrakten aus Leukocyten und dem entsprechenden implantierten Organ, verglichen mit dem histologischen Bild der Veränderungen im Implantat.

a) nach 8, b) nach 14 Tagen, c) nach 4 Wochen. (Die Extrakte bleiben alle negativ mit Normalserum.)

	Nr.	Implant. Organ	Extrakt- Mischung	Amy- loid	1:1	1:5	1:10	1:20	Histologischer Befund des Implantats
a	1	Leber	Leber Leukocyten	—	++ —	— +	— +	? +	Schmaler Granulationsgewebstreifen am Rand. Kernfärbung überwiegend erhalten. Wenig Leukocyten.
	3	Milz	Milz Leukocyten	(+)	? ?	— (+)	— —	— —	Sehr starke Nekrose, mäßige Zahl Leukocyten.
	4	Muskel	Muskel Leukocyten	—	++ +	(+) +	(+) ?	(+) —	Starke Nekrose, dichter Leukocytenwall
	5	Muskel	Muskel Leukocyten	—	— +	— +	— —	? —	Wenig Leukocyten, viel Granulationsgewebe. Ein Drittel Implantation noch erhalten.
b	6	Leber	Leber Leukocyten	—	+ +	— +	— ?	+ —	Viel erhaltene Kerne. Schmaler Granulationsgewebswall. Mittlere Menge Leukocyten.
	8	Milz	Milz Leukocyten	—	— ++++	(+) ++	— ++	+ +	Sehr viele Leukocyten. Totale Nekrose des Implantates.
	9	Muskel	Muskel Leukocyten	—	(+) —	(+) —	(+) ?	+ +	Zum kleineren Teil erhalten, viel Leukocyten und Granulationsgewebe.
c	11	Leber	Leber Leukocyten	—	++ —	+ —	+ +	+ —	Völlig nekrotisch, mäßige Zahl Leukocyten.
	12	Milz	Milz Leukocyten	—	— +	— (+)	— ?	— —	Total nekrotisch, schmaler Zellwall am Rand.
	13	Muskel	Muskel Leukocyten	—	++ +	+ —	+ ?	++ —	Stark nekrotisch, mittlere Leukocytenmenge.

Von den insgesamt 22 Tieren starb nach 6 Tagen das erste spontan und wies eine Amyloidose der Milz und vollkommene Nekrose des Leber-

implantates auf; um letzteres eine schmale leukocytaire Infiltrationszone. Nach 8 Tagen wurden 6, nach 14 Tagen 7, nach 4 Wochen weitere 7 Tiere entblutet, die erste Reihe (a) ergab 5, die zweite (b) 4, die dritte (c) 4 verwendbare Sera, deren jedes einmal mit dem dem Implantat entsprechenden Organextrakt und einmal mit Leukocytenextrakt gemischt wurde. Leider war nur ein Tier von den 13 serologisch untersuchten amyloidpositiv. Immerhin ergaben sich interessante Beobachtungen.

Zunächst werden auch hier präcipitierende Antikörper sowohl gegen die den jeweils eingepflanzten Organen entsprechenden, wie gegen Leukocytenextrakte nachgewiesen. Die Stärke der Reaktionen nimmt mit der Länge der Zeit, die das Organstück implantiert ist, deutlich zu; daher ist sie in Reihe b und c größer als in Reihe a. Ferner läßt ein Vergleich der histologischen Untersuchung des Implantates mit der Stärke der Serumreaktion eine deutliche Parallele insofern erkennen, als bei Auftreten einer sehr breiten leukocytären Infiltrationszone um das nekrotische Stück auch serologisch eine stärkere Leukocytentrübungsreaktion eintritt, erklärbar dadurch, daß eine größere

Tabelle 8. Übersicht über die Zahl der mit verschiedenen Extrakten angestellten Versuche, die Zahl der positiven Reaktionen und den Eiweißgehalt der Extrakte.

Extrakt	Gesamt-eiweiß %	Rest-N mg-%	Versuchs- zahl	Positiv
Gesamtmaus	0,12	0,02	8	5
Leukocyten	0,12	—	13	6
Nekrose . .	0,12	—	18	13
Muskel . .	0,05	—	2	2
Leber . . .	0,16	—	5	4
Milz . . .	0,09	—	7	2

Menge von Leukocyten zum Zerfall kommt. Ferner ist der Grad der Nekrose nicht nur abhängig von der Zeit, sondern auch von Ernährungsmöglichkeiten durch das umgebende Gewebe und wir fanden — besonders bei Muskelimplantaten — sehr stark nekrotische gegenüber noch relativ gut erhaltenen Stücken. Die ersteren zeigen im Serum eine stärkere Trübungsreaktion mit dem ihnen entsprechenden Extrakt. Alle geschilderten Verhältnisse gehen im einzelnen noch aus der angefügten Tabelle hervor. Aus ihr ist ferner zu ersehen, daß die Milz wesentlich schlechtere Seroreaktionen bewirkt als die anderen Organe; Leber noch etwas besser als Muskel. Die Leukocytenextraktreaktion aber hängt nicht vom implantierten Organ selbst, sondern von der mehr oder weniger starken Leukocytenwallbildung um das Implantat ab.

Wir sehen also bisher zwei wichtige Punkte als Resultat der Versuche: als ersten die Trübungsreaktion, eintretend bei Mischung eines amyloidpositiven und eines amyloidnegativen Serums, als zweiten die Trübungsreaktion von Amyloidseren mit Leukocyten- und ebenso mit Organextrakten. Die wiederum bei negativen Tieren viel stärkere Reaktion als bei positiven reiht sich sinngemäß an die schon erworbenen Erfahrungen an. Es fragt sich aber, ob ein Überblick über die Resultate

nicht ein besonderes Vorwiegen des einen oder anderen Extraktes zu erkennen gibt. Darüber gibt die Tabelle 8 Auskunft.

Tabelle 9. Vergleich der Reaktionsstärke der einzelnen Extrakte im gleichen Serum.

Nr.	Extrakt	1:5	1:10	1:20	1:40	Amyloid
1	Gesamt	+	+	+	+	—
	Nekrose	+	+	+	(+)	
	Leukocyten . .	?	+	+	+	
2	Gesamt	—	+	—	—	+
	Nekrose	—	—	—	—	
	Leukocyten . .	?	—	—	—	
3	Gesamt	?	+	+	?	—
	Nekrose	+	++	+	+	
	Leukocyten . .	—	+	?	(+)	
4	Gesamt	?	—	—	—	+
	Nekrose	—	—	—	—	
	Leukocyten . .	—	—	?	—	
5	Gesamt	++	++	+	+	—
	Nekrose	++	+	+	+	
	Leukocyten . .	+	+	?	+	
6	Gesamt	+	—	—	—	+
	Nekrose	—	—	—	—	
	Leukocyten . .	—	—	?	—	
7	Gesamt	+	+	(+)	+	—
	Nekrose	+	+	+	+	
	Leukocyten . .	?	—	(+)	—	
8	Gesamt	+	(+)	(+)	—	+
	Nekrose	—	?	—	—	
	Leukocyten . .	?	—	(+)	?	
9	Gesamt	++	++	+	++	—
	Nekrose	++	+	++	+	
	Leukocyten . .	++	+	++	+	
10	Gesamt	—	—	?	—	+
	Nekrose	+	—	—	—	
	Leukocyten . .	—	—	—	?	
11	Gesamt	+	++	(+)	+	—
	Nekrose	+	+	?	?	
	Leukocyten . .	++	+	+	(+)	
12	Gesamt	—	—	(+)	(+)	+
	Nekrose	?	?	—	?	
	Leukocyten . .	(+)	?	—	—	

Sie zeigt die Art des Extraktes, den Eiweißgehalt desselben, die Zahl der jeweils angestellten Versuche und deren positive Resultate. Danach könnte es zunächst aussehen, als ob der Eiweißgehalt des Extraktes

die Häufigkeit der positiven Reaktionen beeinflussen würde; denn die verhältnismäßig meisten positiven Resultate ergibt der eiweißreichste Extrakt mit 0,16% und 4 positiven von 5 Fällen und der eiweißärmste mit 0,9% der Milz hat nur 2 positive von 7 Fällen. Aber ein Blick in die vorhergehende Tabelle zeigt, daß die Milz auch im Implantationsversuch am schlechtesten zur Antikörperbildung anregt und die Leber nächst dem Muskel am stärksten. Vielleicht liegt dies daran, daß die Milz an sich infolge ihres Kernreichtums ein weniger gut resorbierbares Eiweiß enthält, denn die Nukleoproteide sind ja weniger leicht angreifbar. Zudem wissen wir gerade aus früheren (*Pick und Hashimoto*) und jüngeren Untersuchungen, daß in der Leber (*Pick*) und in der Muskulatur (*Berger und Bleyer*) nach einem parenteralen „Proteinstoß“ das „lösliche Eiweiß“ besonders ansteigt. Unter diesen Gesichtspunkten ergibt also die Tabelle, daß die Leukocyten mit ihrer antigenbildenden Wirkung nicht überwiegen und die anderen Extrakte ihnen mindestens gleichstehen.

Dies sind die reinen Häufigkeitsverhältnisse. Wie steht es mit den Stärkegraden der Reaktionen? Für diese Frage sind nur die Fälle verwertbar, bei welchen neben der Leukocytenextraktprobe auch noch eine Reihe anderer am gleichen Serum vorgenommen worden waren. Auch dabei ergibt sich kein überwiegendes Hervortreten der Leukocytenextrakte, ein Umstand, der ja auch schon aus der Tabelle der Implantationsversuche zu ersehen war. Man kann also weder im positiven noch im negativen Amyloidfall davon sprechen, daß mehr präcipitierende Antikörper gegen Leukocyteineiweiß als gegen anderes Organeiweiß vorhanden seien; denn aus der Tabelle 9 geht hervor, daß auch die Stärke der Leukocytenextraktreaktion nicht größer ist, als die der anderen Reaktionen.

Serie V. Pferdeorganextraktreaktion.

Die letzten beiden Versuchsreihen beschäftigten sich nochmals mit den Pferdeseren und zwar wurden in gleicher Weise wie bei den Mäusen Leukocyten- und Organextrakte mit Seren von amyloidkranken und anderen Serumpferden gemischt. Entgegen den befriedigenden Erfolgen, welche mit dieser Anordnung bei Mäusen erzielt worden waren, ergaben die Pferdesera keine sehr guten Resultate, so daß auf die Fortführung dieser Versuche verzichtet wurde. Die Gründe für die schlechtere Eignung der Pferdesera wurden oben schon eingehend erläutert.

Da es *Lehmann-Faciüs* bei seinen serologischen Untersuchungen über Carcinom- und Tuberkulosereaktionen im menschlichen Serum gelungen war mit der Globulinfraktion der verwandten Sera bessere Erfolge zu erzielen als mit den Nativseren, so wurden aus einer Reihe von Pferdeseren mit der Methode der Elektroultrafiltration die Euglobuline fraktioniert und deren Lösung zur Reaktion, statt der Gesamtseren angewandt. Der Erfolg auch dieser Versuche war sehr mäßig und

erbrachte keine besseren Ergebnisse als die Verwendung der Nativsera. Mit Mäuseseren die Globulinfraktionierung durch Elektroultrafiltration vorzunehmen scheitert an der zu geringen Menge des Serums; die Ammonsulfatfällung in der von *Lehmann-Facijs* angegebenen Weise dagegen führt, wie ich mich mehrmals überzeugen konnte, zu nachträglichen Trübungen durch die noch vorhandenen Reste von Ammonsulfat.

Faßt man das *Gesamtergebnis* der *serologischen* Untersuchungen an Pferde- und Mäuseseren nun zusammen, so erweist sich zunächst als richtig, was wir anfänglich, von anderen Gesichtspunkten ausgehend, schon angenommen hatten, daß nämlich im Falle der Amyloidose im Serum des Versuchstieres ein Überschuß an Antigen und im gegenteiligen Falle ein Überschuß an Antikörpern vorhanden sein muß oder, vom Krankheitsverlauf aus betrachtet, daß Amyloid vornehmlich dann entsteht, wenn die Antikörperbildung des Organismus schlecht zu werden beginnt. Der Ausfall der geschilderten Trübungsreaktion bei Mischung zweier Sera bestätigt diese Ansicht. Des weiteren hat sich gezeigt, daß im Verlaufe der Amyloiderkrankung im Serum präcipitierende Antikörper auftreten, welche nicht nur mit Leukocyteneiweiß, sondern ebenso mit Extrakten aus Leber-, Milz- und Muskeleiweiß, ferner auch mit dem Gesamtkörpereiweiß normaler Mäuse und dem Detritus aus Nekroseherden Präcipitate zu erzeugen vermögen. Diese Befunde decken sich mit den schon von *Centanni* mitgeteilten Beobachtungen, der seine Autocytopräcipitine im Serum mit Extrakten aus verschiedensten Organen präcipitierend fand und daraus schließt, der Organismus reagiere hier auf einen allgemeinen Zellbestandteil. Auf unsere spezielle Frage nach der Spezifität der Leukocytenantigene angewandt, können wir zwar auch jetzt noch nicht mit aller Bestimmtheit sagen, daß die Leukocyten keine alleinige und spezifische Rolle in der Amyloidentstehung spielen, aber nach allem, was wir im Verlaufe unserer Untersuchung kennen zu lernen Gelegenheit hatten, scheint mir diese Anschauung wesentliche Stützpunkte verloren zu haben. Gegenüber der Reaktion mit jeweils verschiedenen Organextrakten könnte man behaupten, daß dies eine gruppenspezifische Erscheinung sei, die noch nicht gegen die alleinige Rolle der Leukocyten spräche; dann müßte man aber verlangen, daß die Leukocytenreaktion stärker wäre als die mit anderen Extrakten, was nicht der Fall ist. Man muß von vornherein verschiedene Denkmöglichkeiten offen halten: Es entwickeln sich als Folge einer parenteralen Proteinkörperinjektion oder sonstiger parenteraler Reize, jeweils spezifische Antikörper gegen die von verschiedenartigem Organeiweiß (Leukocyten, Muskel, Leber, Niere) entstehenden Antigene; das würde heißen, daß es aber dann auch verschiedene Amyloidarten geben müßte, eine auf Leukocyten, eine zweite beispielsweise auf abgebautes Muskeleiweiß usw. Die nächste Möglichkeit ist die, daß ein bestimmtes Antigen entsprechend

den Arbeitsergebnissen von *Landsteiner* und seinen Mitarbeitern die Bildung verschiedenartiger Antikörper mit verschiedener Reaktionsbreite und Spezifität hervorzurufen imstande wäre (*von der Scheer, Wells and Osborne*) und man wäre dann berechtigt, die Leukocyten als das ursprüngliche Antigen anzusehen, das die Entstehung der weiteren Antikörper gleichzeitig mit verursacht hätte. Das ist aber einerseits etwas ähnliches wie die eben genannte Gruppenspezifität; andererseits würden sich diese Verhältnisse auch teilweise mit der schon von *Centanni* gebrachten Auffassung decken. Er hat beobachtet, daß die leicht autolysierten Extrakte viel bessere Präcipitationserscheinungen hervorriefen als die nativen und ist deshalb der Ansicht, daß es sich bei dieser Antikörperbildung gegen arteigenes Eiweiß um eine bestimmte, in allen Zelleiweißkomplexen vorkommende Gruppe handelt, die erst bei leichter Autolyse, aber dann aus allem Zelleiweiß frei wird, um auch erst dann ihre antigene Wirkung zu entfalten. Verglichen mit dem, was wir über die Wirkung parenteral eingebrachter Körper hinsichtlich der intravitalen Eiweißautolyse (*Pick und Hashimoto, Isaac, Berger und Bleyer*) wissen, und unter Zuhilfenahme der geschilderten Versuchsergebnisse wird man dieser Anschauung bis jetzt die größte Wahrscheinlichkeit zuerkennen dürfen. Hier wird erst weitere experimentelle Arbeit Aufklärung schaffen können.

Zwei Dinge bedürfen aber noch der Erwähnung, wenn man sich schon einmal auf Grund neuer experimenteller Erfahrung eine Vorstellung über die Amyloidentstehung zu bilden versucht. Schon zu Beginn wurde erwähnt, daß die Frage, auf welche Weise das Antigen jenseits der Gefäßwand ins Gewebe der amyloiderkrankenden Organe gelangt, um dort mit dem Antikörper das Präcipitat Amyloid zu bilden, nicht geklärt sei. Denn an der Undurchdringlichkeit der intakten Gefäßwand für hochmolekulare Eiweißstoffe ist wohl nicht zu zweifeln. Dieser Punkt scheint mir aber für die ganze Vorstellung von grundsätzlicher Bedeutung, denn es wäre zu fordern, daß der die Präcipitation auslösende Stoff die Gefäßwand zu durchdringen vermag. Wir wissen heute (s. *Landsteiner* 2), daß bestimmte Kohlehydratgruppen aus Bakterieneiweiß zwar selbst der antigenen Eigenschaften entbehrend, in einen Präcipitationsvorgang mit Eiweißkörpern eintreten können und da gerade den Kohlehydratgruppen bei den Farbreaktionen des Amyloids eine wesentliche Bedeutung zuzukommen scheint (*Schmiedeberg*), so wird diesen Beziehungen in weiteren Untersuchungen erhöhte Aufmerksamkeit zu schenken sein, nicht nur hinsichtlich der chemischen Reaktionen, sondern besonders im Hinblick auf ihre Fähigkeit, die Gefäßwand zu durchdringen und präcipitierend auf bestimmte Eiweißkörper zu wirken. Über die Art und Weise der Entstehung dieser Kohlehydratgruppen läßt sich heute keinerlei bestimmte Angabe machen.

Unsere experimentellen und serologischen Beobachtungen lenken die Anschauungen über die Entstehung des Amyloids in die ganz bestimmte Richtung

einer Antigenantikörperreaktion, deren Richtigkeit in ihren Grundlinien durch die vorgebrachten Tatsachen weitgehend gestützt erscheint. Haben wir uns aber dabei nur mit den allgemeinen Amyloidosen befaßt, so erhebt sich die berechnigte Frage, wie andere Fälle von Amyloidvorkommen sich diesen Tatsachen gegenüber verhalten und mit ihnen vereinbar sind. Es kann nicht im Rahmen der vorliegenden Arbeit liegen noch im einzelnen auf dieses Gebiet einzugehen, besonders da bislang kein neues Material beigebracht werden kann, aber es sollte diese Abhandlung nicht abgeschlossen werden ohne die Frage, ob und wie die in mancher Hinsicht neuen Gedankengänge gegenüber dem Gebiet des *atypischen und des lokalen Amyloids* anzuwenden und brauchbar seien. Wenn wir für die allgemeine Amyloidose eine logisch zusammenhängende, den Erfahrungs- und Experimentaltatsachen entsprechende Anschauung entwickeln könnten, so müssen wir wohl sagen, daß dies auf dem Gebiet der atypischen Amyloidose bis jetzt in diesem Maße nicht möglich ist. Dennoch möchte ich nicht behaupten wollen, daß aus diesen Gründen auch die Erklärungen für die allgemeine Amyloidose nicht richtig sein könnten. Ich verstehe unter atypischem Amyloid diejenigen Arten der Ablagerung, bei welchen die sonst befallenen parenchymatösen Organe ganz oder nur zum größten Teil frei bleiben und das Amyloid besonders in der quergestreiften Muskulatur, in der Haut usw. auftritt, rechne aber zu diesem Kapitel auch das wohl grundsätzlich davon nicht zu unterscheidende, sog. tumorförmige Amyloid (vgl. hierzu Literatur bei *Leupold 2*, *Lubarsch 1* und *2*). Dann entsteht die Frage, warum lagert sich in gewissen Fällen das färbereich und morphologisch ganz gleichartige Amyloid in völlig anderem Gewebe ab, warum erkranken in solchem Falle immer nur die Elemente der glatten und quergestreiften Muskulatur, die Gefäße, das Herz, die Extremitäten- und Zungenmuskulatur, oder bei multiplen Myelomen z. B. das Knochenmark mit diffuser oder knotiger Ablagerung, während sonst das Knochenmark so gut wie immer frei bleibt? Wie kommt es, daß gerade in entzündlichem Gewebe (*M. B. Schmidt*), in gereizten Lymphknoten (*Lubarsch*), in lymphogranulomatösem Gewebe (*Gsell*) eine besonders bevorzugte Stelle für Amyloidablagerung in diesem und auch im Fall allgemeiner Amyloidose zu erkennen ist? Wenn wir nicht einen ganz anderen, von der allgemeinen Amyloidose grundsätzlich unterschiedenen Vorgang annehmen, so sieht man sich der Forderung gegenübergestellt, auch hier eine Erklärung aus dem Gebiet der Antigenantikörperreaktionen zu finden. Aber findet dann auch hier die Amyloidpräzipitation am Ort der Antikörperbildung statt, so wie man das bei der allgemeinen Amyloidose annehmen muß, dann müßten die großen Parenchyme in diesem Falle gänzlich ausgeschaltet sein und ihre Tätigkeit eingestellt haben; ein kaum anzunehmender Zustand. Wenn wir von der durch meine Versuche mindestens sehr unwahrscheinlich gewordenen alleinigen Bedeutung des Leukocyteneiweiß abgehen zugunsten eines in jedem Zelleiweiß vorhandenen antigenfähigen Komplexes, so könnte man auch annehmen, daß bei den atypischen Amyloidosen die präcipitinbildenden Funktionen in den intakt gebliebenen Organen ebenfalls erhalten geblieben wären und die Abscheidung in umgekehrter Weise, also am Ort der Antigenausschwemmung stattfinden würde. Dazu wäre es wohl gar nicht notwendig, daß alle amyloid-erkrankenden Stellen auch tatsächlich antigenbildend wären, gleiche Stoffwechselfunktion könnte genügen. Diese Vorstellungen decken sich mit denen, die *Loeschke* ursprünglich für die Hyalinstehung ausgesprochen hat; daß aber das Präcipitationshyalin eine wahrscheinlich höchst seltene Erscheinung gegenüber den übrigen auf Degenerationsphänomenen beruhenden Hyalinisierungen ist, wurde früher schon erwähnt. Will man in diesen Bahnen bleiben, so sehe ich vorerst keine andere Möglichkeit der Erklärung, besonders auch nicht für die Amyloidablagerung in Myelomherden des Knochenmarkes; denn dort ist ja die Antigenbildung noch viel offensichtlicher, ohne daß man, wie dies *Magnus-Levy* möchte, den *Bence-Jones-Eiweißkörper* als die Muttersubstanz des Amyloids anzusehen braucht; eine schon

bei einem Vergleich der chemischen Zusammensetzung der beiden Eiweißkörper hinsichtlich ihres Gehaltes an C, N, S und an Tyrosin (*Eppinger*) keineswegs wahrscheinliche Ansicht; in gleicher Weise wäre wohl der oben schon einmal besprochene Experimentalbefund von *Butt* mit isolierter Nierenamyloidose bei Manganvergiftung und die ganz isoliert dastehende Beobachtung von *A. W. Fischer* und *Holfelder* zu deuten, der in einem durch Röntgenbestrahlung geschädigten Hirnbezirk lokales Amyloid abgelagert fand. In jedem Falle spielt aber auch hier das Mesenchym eine wesentliche Rolle und die ganz bestimmte Lokalisation der abgelagerten Amyloidmassen zu Gefäßwänden und Capillaren hat besonders amerikanische Autoren, die kürzlich solche Fälle beobachtet haben (*Warren, Larsen*) zu der Ansicht einer „veränderten Funktion der Bindegewebelemente der Muskulatur“ geführt.

Wenn man diese Fälle klinisch nach dem ganzen Krankheitsverlauf betrachtet, so unterscheiden sie sich nicht unwesentlich von denen mit typischer Amyloidose; denn die eigentlichen Krankheitszeichen beginnen erst dann, wenn sich die gestörte Organfunktion (Herz, Darm usw.) durch die Amyloideinlagerung geltend macht. Anzeichen für herabgesetzte Resistenz oder sonstige schwere primäre Krankheitszeichen, wie wir sie bei den anderen Fällen eben in den sog. Grundkrankheiten kennen, fehlen fast immer gänzlich, wenn auch Übergänge von der einen zur anderen Gruppe bestehen. Aber dennoch ist bei den atypischen Amyloidosen noch vieles zu finden, was widerspruchsvoll und einer Erklärung bis jetzt unzugänglich ist. Immerhin mögen diese Überlegungen zeigen, daß auch für solche Fälle die in der vorliegenden Arbeit begangenen Wege gangbar sein können.

Die aus dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse führen zu folgender Anschauung über das gesamte Problem der Amyloidentstehung:

1. Die Amyloidose ist eine Erkrankung, die auf Grund einer präcipitierenden Antigenantikörperreaktion innerhalb des Organgewebes entsteht.

2. Das Antigen ist eingeschmolzenes körpereigenes Eiweiß. Den Leukocyten kommt allem Anschein nach eine alleinige spezifische Bedeutung für die Antigenbildung nicht zu.

3. Im Serum amyloidkranker Tiere sind präcipitierende Antikörper gegen körpereigenes Eiweiß (Leber, Milz, Muskel, Leukocyten) nur spärlich, dagegen im Serum noch nicht amyloider, aber einer krankmachenden Behandlung unterworfenen Tiere die gleichen Antikörper reichlich vorhanden.

4. Die Amyloidose entsteht also dann, wenn der Antigengehalt des Blutes groß, der Präcipitinogengehalt der Gewebssäfte klein ist, ein Verhältnis, das in erster Linie bei herabgesetzter, nachlassender oder überhaupt schlechter Antikörperbildung des Organismus zu finden ist.

5. Die Ernährung mit ihrem mittelbaren Einfluß auf die Antikörperbildung ist ein wesentlicher, die Amyloidentstehung verhindernder, verzögernder oder (wenn qualitativ unzureichend) beschleunigender Faktor.

6. Die atypischen Amyloidosen lassen den Schluß zu, daß bei ihnen das Antigenantikörperverhältnis sich umgekehrt gestaltet wie bei den typischen Allgemeinamyloidosen.

Schrifttum.

- Achard et al.* (1): Ann. d'Anat. path. **8**, 1160 (1931). (2) Ann. d'Anat. path. **9**, 201. (3) C. r. Soc. Biol. Paris **109** (1932). — *Achard et Flaudin*: C. r. Soc. Biol. Paris **71**, 91 (1911). — *Arndt* (1): Verh. dtsh. path. Ges. 26. Tagg **1931**, 243. (2) Münch. tierärztl. Wschr. **1928**, Nr 25. (3) Arch. Tierheilk. **63** (1931). — *Berger u. Bleyer*: Z. exper. Med. **45**, 385 (1925). — *Beumer*: Z. Kinderheilk. **35**, 298. — *Bruckmüller*: Siehe bei *Morgenstern*. — *Butt*: Arch. of Path. **10**, 859 (1930). — *Centanni*: (1) Zbl. Bakter. **35** (1904). (2) Zbl. Bakter. **43** (1907). — *Cruz*: Frankf. Z. Path. **41**, 250 (1931). — *Degkwitz*: Wiss. Forsch.ber. **31** (1933). — *Desclin*: Siehe bei *Rudolf Jaffé*. — *Doerken*: Virchows Arch. **286**, 487 (1932). — *Doerr u. Russ*: Z. Immun.forsch. **3**. — *Dold*: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. **13**, Teil 2. — *Dold u. Rhein*: Z. Immun.forsch. **20**, 520 (1924). — *Domagk*: Virchows Arch. **253**, 594 (1924). — *Domagk u. v. Dobeneck*: Virchows Arch. **290**, 385 (1933). — *Dreyer*: Med. Res. Council **1923**, Nr 78. — *Eppinger*: Biochem. Z. **127**, 107 (1922). — *Fischer u. Holfelder*: Z. Chir. **227** (1930). — *Friedreich u. Kekulé*: Virchows Arch. **16** (1859). — *Gardner*: Lancet, 14. Juli **1917**. — *Grayzel, Jacobi et al.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **28**, 172 (1930). — *Grayzel et al.*: Arch. of Path. **17**, 50 (1934). — *Gsell*: Beitr. path. Anat. **81**, 426 (1928). — *Hashimoto u. Pick*: Arch. f. exper. Path. **76** (1914). — *Heinlein*: Arch. f. exper. Path. **149**, 120 (1930). — *Higuchi*: Virchows Arch. **279**, 551 (1931). — *Hirsch u. Köhler*: Fermentforsch. **6**, 56 (1922). — *Isaac*: Z. exper. Med. **61**, 442 (1928). — *Jaffé, Richard H.* (1): Arch. of Path. a. Labor. Med. **1**, 25 (1926). (2) Arch. of Path. a. Labor. Med. **2**, 149 (1926). — *Jaffé, Rudolf*: Verh. dtsh. path. Ges. 26. Tagg **1931**, 254. — *Jakob*: Z. exper. Med. **47** (1925). — *Jancsó*: Z. exper. Med. **64**, H. 1/2 (1929). — *Klinge u. Wacker*: Krkh.forsch. **1**, 257 (1925). — *Koldajeff*: Russk. fiziol. Z. **3**, 139 (1921). — *Krawkow*: Arch. f. exper. Path. **40** (1897); Zbl. Path. **6**. — *Kuczinsky*: Virchows Arch. **239** (1922). — *Landsteiner*: Die Spezifität der serologischen Reaktionen, S. 38. — *Landsteiner und v. d. Scheer*: J. of exper. Med. **40**, 91 (1924). — *Larsen*: Amer. J. Path. **6**, 147 (1930). — *Lehmann-Facius*: Z. Immun.forsch. **51** (1927). — *Letterer* (1): Beitr. path. Anat. **75** (1926). (2) Klin. Wschr. **1933**, Nr 15; **1934**. (3) Z. exper. Med. **93**, H. 1/2 (1934). *Letterer u. Geißendörfer*: Verh. dtsh. path. Ges. 26. Tagg **1931**; Virchows Arch. **285**, 385 (1932). — *Leupold* (1): Beitr. path. Anat. **64**, 374. (2) Erg. Path. I **21**. — *Leupold u. Bogendörfer*: Dtsch. Arch. klin. Med. **140**, 28 (1922). — *Loescheke* (1): Klin. Wschr. **1926**, Nr 41. (2) Beitr. path. Anat. **77** (1927). — *Lubarsch* (1): Virchows Arch. **271**, 867 (1929). (2) Virchows Arch. **274**, 139 (1930). (3) Verh. dtsh. path. Ges. 25. Tagg **1930**. — *Magnus-Levy*: Z. klin. Med. **116** (1931). — *Marie*: (1) Ann. Inst. Pasteur **37**, 921 (1923). (2) Ann. Inst. Pasteur **38**, 945 (1924). — *Mayer*: Krkh.forsch. **6**, 47 (1928). — *Morgenstern*: Virchows Arch. **259**, 698 (1926). — *Murata u. Yoshikawa*: Virchows Arch. **264**, 587 (1927). — *Nowack*: Virchows Arch. **152** (1898). — *Pagel*: Zbl. Tbk.forsch. **29**, 257 (1928). — *Pick*: Dtsch. med. Wschr. **1931**, 1307. — *Prigge*: Z. Hyg. **105**, 299 (1926). — *Rabl*: Virchows Arch. **266**, 133 (1927). — *Raubitschek*: Verh. dtsh. path. Ges. 14. Tagg **1910**. — *Ritz*: Z. Immun.forsch. **9**, 321 (1911). — *Schmidt, M. B.*: (1) Verh. dtsh. path. Ges. 6. Tagg **1903**, 92. (2) Verh. dtsh. path. Ges. 7. Tagg **1904**. (3) Virchows Arch. **254** (1925). (4) Med. Welt **1932**, Nr 19. — *Schmiedeberg*: Arch. f. exper. Path. **87** (1920). — *Schütz* (1): Z. Hyg. **38** (1901). (2) Zit. nach *Dold*, S. 106. — *Smetana*: (1) Bull. Hopkins Hosp. **37**, 389 (1925). (2) Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **24**, 187 (1926). — *Steinert*: Klin. Wschr. **1928**, 251. — *Stuber*: Biochem. Z. **51**, 211 (1913). — *Waldenström*: Klin. Wschr. **1927**, 2235. — *Warren*: Amer. J. Path. **6**, 162 (1930). — *Watanabe*: Trans. jap. path. Soc. **20**, 94 (1930). — *Wells*: W. B. Saunders Comp., 1925. S. 472. — *Wells and Osborne*: J. inf. Dis. **12**, 341 (1913). — *Werner*: Siehe bei *Morgenstern*.